

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1980 - N° 312

L'HEMOGLOBINE A_{1c} :
COMPARAISON
DE DEUX METHODES DE DOSAGE
ET APPLICATION AU DEPISTAGE
DES TROUBLES DE LA GLYCOREGULATION
CHEZ L'HYPERTHYROÏDIEN,
L'HYPOTHYROÏDIEN ET L'OBÈSE.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 16 Septembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Roland CARLIOZ

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 5 Octobre 1953

à CLERMONT (Haute-Savoie)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554211_0034

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

- MEDECINE -

U. E. R. LYON-NORD

Année 1980 - N°

L'HEMOGLOBINE A_{1c} :
COMPARAISON
DE DEUX METHODES DE DOSAGE
ET APPLICATION AU DEPISTAGE
DES TROUBLES DE LA GLYCOREGULATION
CHEZ L'HYPERTHYROÏDIEN,
L'HYPOTHYROÏDIEN ET L'OBÈSE.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 16 Septembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Roland CARLIOZ

Ancien Elève de l'Ecole du Service de Santé des Armées de Lyon

né le 5 Octobre 1953

à CLERMONT (Haute-Savoie)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDICINE -
U. E. R. LYON-NORD

Année 1980 - N°

L'HYPOTHYROIDIE ET L'OBESITÉ.
CHEZ L'HYPERTHYROIDIE,
DES TROUBLES DE LA GLYCOREGULATION
ET APPLICATION AU DEPISTAGE
DE DEUX METHODES DE DOSAGE
COMPARAISONS
L'HEMOGLOBINE A_{1c} :



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 15 Septembre 1980
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Roland CARLOZ

Assistant Esprit de l'Ecole de Médecine de Saint-Etienne de Lyon

né le 5 Octobre 1953

à CLERMONT (Haute-Savoie)

ACADÉMIE DE LYON
Université Claude Bernard
U.E.R. FACULTÉ DE MÉDECINE
LYON - NORD

8, avenue Rockefeller
69373 LYON CEDEX 2
Tél. (7) 875.81.14
Secrétariat Poste 379

TABLEAU DU PERSONNEL DE L'UNIVERSITÉ

Président de l'Université	: Professeur D. GERMAIN
Premier Vice Président	: Professeur M. DUFAY
Deuxième Vice Président	: M. DUPLAN J.C.
Troisième Vice Président	: Melle ECHALLON A.
Secrétaire Général	: M. RAMBAUD J.

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITÉ

MEDECINE ALEXIS CARREL	: Directeur Professeur MORNEX R.
GRANGE BLANCHE	: Directeur Professeur ZECH P.
LYON SUD	: Directeur Professeur NORMAND J.
LYON NORD	: Directeur Docteur MINAIRE Y. (M.C.A.) Directeur honoraire Professeur BERTOYE A. Directeur honoraire Professeur GARIN J.P.
BIOLOGIE HUMAINE	: Directeur Docteur REVILLARD J.P. (M.C.A.)
TECHNIQUES DE READAPTATION	: Directeur Docteur MORGON A.
SCIENCES PHARMACEUTIQUES	: Directeur Professeur BIZOLLON C.A.
SCIENCES ODONTOLOGIQUES	: Directeur Professeur PARRET J.
INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE	: Directeur M. MILLON A.
MATHEMATIQUES	: Directeur Professeur PICARD Ph.
PHYSIQUE	: Directeur J. DELMAU
CHIMIE et BIOCHIMIE	: Directeur Mme VARAGNAT A. (Maitre Assistant)
SCIENCES DE LA NATURE	: Directeur Professeur LEMOIGNE Y.
SCIENCES PHYSIOLOGIQUES	: Directeur Melle le Professeur WORBE J.F.
INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 1	: Directeur M. VILLE A.
INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 2	: Directeur M. GALLET J. (Directeur E.N.S.A.M.)
OBSERVATOIRE	: Directeur M. MONNET Guy (Astronome adjoint)
PHYSIQUE NUCLEAIRE	: Directeur Professeur GUSAKOW M.
MECANIQUE	: Directeur Melle le Professeur COMTE-BELLOT G.

et Christine,
mon amour et mon soutien sont de tous les vœux
et Michel, Valérie,
THÈSE DE : Mr CARLIOZ Roland
et mes Parents,
qu'ils trouvent ici la récompense de leur position,
la reconnaissance de leur amour et le témoignage de mon
affection
et ma famille

THÈSE DE : Mr CARLIOZ Roland

COMPOSITION DU JURY

PRESIDENT	:	M. le	PROFESSEUR	GUINET	U.E.R.	LYON-SUD
ASSESSEURS	:	M. le	PROFESSEUR	NOEL	U.E.R.	GRANGE-BLANCHE
		M. le	PROFESSEUR	TOURNIAIRE	U.E.R.	LYON-NORD
		M. le	PROFESSEUR	MALLEIN	U.E.R.	PHARMACIE

et Christine,

son amour et son soutien sont de tous les instants

et Muriel, Valerie, ...

et mes Parents,

qu'ils trouvent ici la recompense de leurs privations,
la realisation de leurs vœux et le témoignage de mon
affection

et Pierre, Bernadette, Alexandre et Olivier,

et mes Beaux-Parents,

et ma famille.

A notre Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR GUINET P.

Qui nous fait le grand honneur de présider cette thèse.
Qu'il trouve ici, le témoignage de notre profond respect
et de notre reconnaissance.

A nos Juges,

MONSIEUR LE PROFESSEUR NOEL G.

Nous sommes très sensible à l'honneur qu'il nous fait
en acceptant de juger notre travail.

Nous tenons à lui exprimer nos remerciements et notre
profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR TOURNIAIRE J.

Qui nous a fait l'honneur de nous proposer ce sujet de thèse.
Nous avons eu le privilège de bénéficier de son enseignement
tant à la faculté que dans son service.

Nous le remercions pour son accueil, sa confiance et
lui prions d'accepter l'expression de notre reconnaissance
et de notre respectueuse admiration.

MONSIEUR LE PROFESSEUR MALLEIN R.

Il a accepter de siéger parmi nos juges.

Nous tenons à lui exprimer notre vive reconnaissance.

Nous remercions,

*MONSIEUR GOUJON R., PHARMACIEN.
ASSISTANT AU LABORATOIRE CENTRAL DE BIOCHIMIE
DE L'HOPITAL DE L'ANTIQUAILLE (Pr. MALLEIN)*

pour ses conseils et sa compétence dans la
réalisation technique de son travail.

MONSIEUR LE DOCTEUR BONGLET G.

pour sa disponibilité et sa précieuse collaboration
tout au long de cette année.

*MONSIEUR LE MEDECIN PRINCIPAL BUGAT R.
ASSISTANT AU CENTRE DE RECHERCHES DU SERVICE
DE SANTE DES ARMEES.*

pour nous avoir enseigné les bases statistiques
nécessaires à l'exploitation des résultats.

*MESDAMES ET MONSIEUR LES ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE
LES INFIRMIERES ET LES SECRETAIRES DE LA CLINIQUE
ENDOCRINOLOGIQUE DE L'HOPITAL DE L'ANTIQUAILLE.*

pour leur aimable assistance.

MONSIEUR LE DOCTEUR BERCIAUD P.

pour son indispensable et amicale participation.

A MONSIEUR LE MEDECIN GENERAL INSPECTEUR THALABARD
COMMANDANT L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES DE LYON.

A MONSIEUR LE MEDECIN EN CHEF DUCASSE.
CHEF DU SERVICE DE PNEUMO-PHTISIOLOGIE DE L'HOPITAL
D'INSTRUCTION DES ARMEES DES GENETTES.

A MONSIEUR LE MEDECIN EN CHEF LESBRE
CHEF DU SERVICE DE MEDECINE A DE L'HOPITAL D'INSTRUCTION
DES ARMEES DES GENETTES.

Nous les remercions pour leur enseignement et la confiance
qu'ils nous ont accordé au cours de notre année de stage interne.

A MONSIEUR LE MEDECIN PRINCIPAL HUGUEUX.

Nous le prions de croire à notre reconnaissance.

AU MAJOR LABROUSSE.

Il est difficile de lui exprimer ici notre gratitude
et notre amitié.

A TOUS MES AMIS ET CAMARADES DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE DES
ARMEES DE LYON

En témoignage de ma sincère amitié.

TABLE DES MATIERES.

	Pages
INTRODUCTION	I
ABREVIATIONS	3
GENERALITES	5
A - ETUDE BIOCHIMIQUE	6
I - Structure de l'hémoglobine adulte	6
II - Structure de l'hémoglobine glycosylée HbA ₁	7
III - Structure de l'hémoglobine glycosylée HbA _{1c}	8
IV - Biosynthèse de l'hémoglobine A _{1c} glycosylée	9
B - DIABETE SUCRE ET HEMOGLOBINE GLYCOSYLEE	13
I - Historique	13
II - Hémoglobine glycosylée et contrôle du diabète	14
III - Effet de la glycosylation sur la fonction de l'hémoglobine et signification de l'hémoglobine glycosylée.....	19
TECHNIQUES	22
A - TECHNIQUE DE DOSAGE DE L'HbA _{1c}	23
I - Les premières méthodes de dosage	23
II - Les méthodes actuelles de dosage	25
III - Limites du dosage et particularités liées au terrain....	33
B - LA COMPARAISON DE 2 METHODES DE DOSAGE DE L'HbA _{1c}	35
I - Introduction	35
II - Sujets étudiés	35
III - Méthodes	36
IV - Résultats	37
V - Commentaires	37

QUELQUES APPLICATIONS PRATIQUES EN DEHORS DU DIABETE SUCRE.....	44
A - INTRODUCTION AU TRAVAIL	45
B - METHODOLOGIE	46
C - TROUBLES DE LA FONCTION THYROIDIENNE ET HbA _{1c}	50
I - Diabète et hyperthyroïdie	50
II - Diabète et hypothyroïdie	51
III - Sujets étudiés	52
IV - Résultats	53
V - Commentaires	55
D - OBESITE ET HbA _{1c}	59
I - Diabète et obésité	59
II - Sujets étudiés	60
III - Résultats	61
IV - Commentaires	62
TABLEAUX RECAPITULATIFS	68
CONCLUSIONS	76
BIBLIOGRAPHIE	80

INTRODUCTION

Longtemps méconnue, l'hémoglobine glycosylée occupe actuellement une place privilégiée en diabétologie, à plusieurs titres :

- Elle s'avère un nouveau paramètre de surveillance du diabète sucré, reflétant à elle seule la qualité du contrôle glycémique dans les quarante jours précédant son dosage.

- Elle représente une modification, secondaire aux perturbations de l'équilibre glycémique, d'une protéine physiologique. Ce modèle théorique pourrait s'appliquer à la pathogénie des complications dégénératives du diabète sucré.

- Son intérêt dans le dépistage de la maladie diabétique reste à préciser.

Ce travail consistera dans un premier temps, à faire un rappel de la biochimie de l'hémoglobine A_{1c} , et de ses rapports avec le diabète sucré.

Dans un deuxième temps, nous développerons les différentes techniques de dosage, en essayant de comparer les résultats obtenus avec deux d'entre elles.

Enfin, dans un dernier temps, nous tenterons d'évaluer son intérêt dans les troubles de la glycorégulation de trois populations : vingt-cinq hyperthyroïdiens, cinq hypothyroïdiens et vingt-trois obèses.

ABREVIATIONS.

<i>Av. Guer</i>	: Avant guérison.
<i>Ap. Guer</i>	: Après guérison.
<i>Cholest</i>	: Cholestérolémie.
<i>Digital</i>	: Digitaline.
<i>DID</i>	: Diabète insulino-dépendant.
<i>DNID</i>	: Diabète non insulino-dépendant.
<i>2-3-DPG</i>	: 2-3-phosphoglycérate.
<i>Evol</i>	: Evolution.
<i>FDP</i>	: Fructose-diphosphate.
<i>G6P</i>	: Glucose 6-phosphate.
<i>GSB</i>	: Goître secondairement basedowifiés
<i>GHMNT</i>	: Goître hétéromultinodulaire toxique.
<i>g/l</i>	: Gramme par litre.
<i>Hb</i>	: Hémoglobine.
<i>HGPO</i>	: Hyperglycémie provoquée par voie orale.
<i>ITL</i>	: Index de thyroxine libre.
<i>ml</i>	: millilitre.
<i>Obs</i>	: Observations.
<i>Trigly</i>	: Triglycéridémie.
<i>Traitem</i>	: Traitement.
<i>Tranquil</i>	: Tranquillisant.
<i>T₃RI</i>	: Triiodothyronine radioimmunologique.
<i>TSH</i>	: thyro-stimuline hypophysaire.

GENERALITES

A - ETUDE BIOCHIMIQUE.

I - STRUCTURE DE L'HEMOGLOBINE ADULTE :

L'hémoglobine (Hb) adulte normale est formée de deux parties :

- L'hème : partie stable de la molécule.

C'est la copule prosthétique, fixe quelle que soit l'hémoglobine : normale, anormale ou animale.

- La globine : partie variable de la molécule.

Il s'agit d'un tétramère formé de quatre chaînes protéiques, porteuses chacune d'une hème, et en général semblables deux à deux.

Chaîne alpha (α) : 141 acides aminés (AA).

Chaîne bêta (β), gamma (γ), et delta (δ) : 146 AA.

Chaîne epsilon (ϵ) chez le fœtus.

L'étude chromatographique sur résine échangeuse d'ions (Amberlite IRC 150) (22), montre plusieurs fractions :

- D'une part des constituants génétiquement déterminés :

§ HbA : qui représente 90 à 95% de la totalité de l'hémoglobine humaine, formée de deux paires de chaînes polypeptidiques alpha et bêta (que l'on notera $\alpha_2 \beta_2$).

§ HbA₂ : qui représente de 1,5 à 3% de l'hémoglobine totale humaine, formée de deux paires de chaînes alpha et delta ($\alpha_2 \delta_2$).

§ HbF : 0,5% de la totalité de l'hémoglobine, formée de deux paires de chaînes alpha et gamma ($\alpha_2 \gamma_2$).

- D'autre part des fractions mineures :

Parmi lesquelles les hémoglobines glycosylées qui furent découvertes en 1958 par Allen et ses collaborateurs (2) : trois types d'hémoglobines glycosylées notées HbA₁ furent individualisées :

$$\left. \begin{array}{l} \text{§ HbA}_{1a} \\ \text{§ HbA}_{1b} \\ \text{§ HbA}_{1c} \end{array} \right\} \text{représentant 6 à 10\% du total de l'hémoglobine humaine.}$$

Il existe également deux autres fractions glycohémoglobiniques HbA_{1d} et HbA_{1e}, à des taux variables, mises en évidence pour la première fois par Clegg et Schroeder (22), retrouvées par Trivelli (120), mais dont la structure est actuellement inconnue.

La biosynthèse de l'hémoglobine se fait dans la cellule rouge jeune. La durée de cette synthèse est d'environ 48 heures. L'hémoglobine va ensuite rester dans l'hématie où elle vieillit (HbA_3) et meurt après une durée de vie d'environ 120 jours.

II - STRUCTURE DE L'HEMOGLOBINE GLYCOSYLEE HbA_1 :

L' HbA_1 est elle-même formée, comme nous l'avons dit plus haut, de trois sous-fractions HbA_{1a} , HbA_{1b} , HbA_{1c} , qui ont la même structure moléculaire que l'hémoglobine A normale, dont elles ne diffèrent chimiquement que par la présence d'un sucre sur les deux chaînes bêta.

§ L' HbA_{1a} : environ 1,6% de l'hémoglobine totale adulte (50) ; elle a pu être dissociée en deux sous-unités (93).

- L' HbA_{1a1} : de même structure protéique de base que l'hémoglobine A ($\alpha_2 \beta_2$) mais avec l'attachement à la valine aminoterminal des deux chaînes bêta, d'une molécule de fructose 1-6 diphosphate (93).

- L' HbA_{1a2} : (50) avec tétramère identique à l' HbA mais avec l'attachement à la valine aminoterminal des deux chaînes bêta, d'une molécule de glucose 6 phosphate (G6P) (23, 93).

§ L' HbA_{1b} : environ 0,8% de l'hémoglobine totale adulte (50). Sa structure est encore incomplètement définie :

- Seule une des deux chaînes serait modifiée, probablement par déamidation d'une molécule d'asparagine ou de glutamine (79, 80).

- Elle serait également glycosylée, mais non sur le N terminal de la chaîne bêta (79, 80).

§ Enfin l' HbA_{1c} : qui représente 4 à 6% du total de l'hémoglobine adulte normale et dont nous détaillerons la structure ci-après.

	HbA_{1a1}	HbA_{1a2}	HbA_{1b}	HbA_{1c}
Structure	$\alpha_2(\beta\text{-N-FDP})_2$	$\alpha_2(\beta\text{-N-G6P})_2$	$\alpha_2(\beta\text{- ?})$	$\alpha_2(\beta\text{-N-GL})_2$
AUTEURS	TRIVELLI et Coll (120)			5 à 7 %
	BUNN et coll (14)	1,6 %	0,8 %	4 %
	McDONALD et Coll (93)	$0,19 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,4 \%$	$0,8 \pm 0,15 \%$
	WACJMAN et Coll (126)			$3,3 \pm 0,3 \%$
	COLE et coll (24)			$5,2 \pm 0,7 \%$
				$5,06 \pm 0,32 \%$

TABEAU I. Taux moyens normaux des hémoglobines glycosylées érythrocytaires chez l'homme.

III - STRUCTURE DE L'HEMOGLOBINE HbA_{1c} :

Celle-ci est définitivement établie.

Holmquist et Schroeder (63) constatèrent en 1966 que chimiquement l'HbA_{1c} et l'HbA ne différaient que par un groupement chimique non identifié fixé sur la valine aminoterminal des deux chaînes bêta. Puis, Bookchin et Gallop (10), identifièrent ce groupement comme étant un hexose. L'hémoglobine A_{1c} est donc une glycoprotéine ; plus récemment cet hexose, fixé sur les deux chaînes bêta de l'HbA_{1c}, fut assimilé au glucose (13, 45) transformé en 1-déoxyfructose après réarrangement de la molécule (75).

Le glucose est attaché à l'extrémité NH₂ terminale de la valine des deux chaînes bêta pour former une liaison aldimine (base de Schiff) qui par la suite subit un réarrangement de type Amadori pour former une liaison cétoamine plus stable (figure 1).

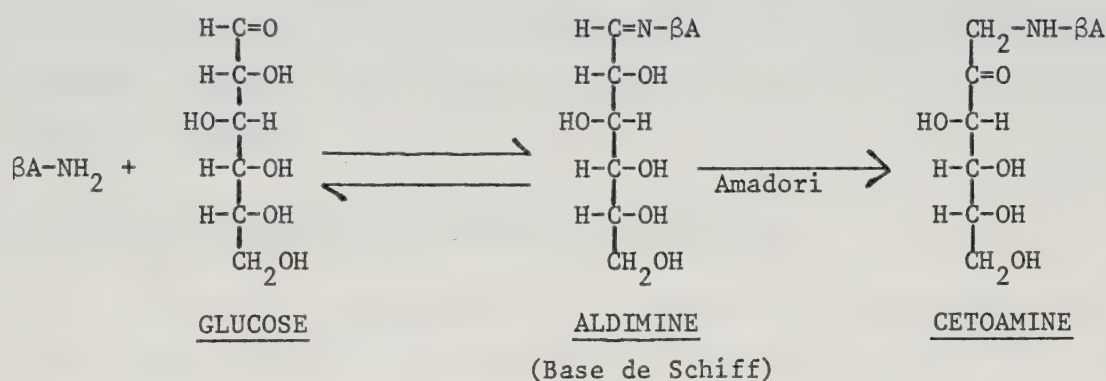


FIGURE 1.

Le traitement par un acide faible paraît accélérer la déshydratation du groupe sucré pour former le 5-hydroxyméthylfurfural (5 HMF) (figure 2). Fluckiger et Winterhalter (45) traitèrent l'HbA_{1c} par l'acide oxalique (0,4 N) à 100°C et obtinrent une bonne quantité de 5 HMF.

La formation de 5-hydroxyméthylfurfural (identifié par le spectre caractéristique de l'association avec l'acide thiobarbiturique) est compatible avec la liaison cétoamine.

Cette réaction fut à la base de la mise au point d'une technique colorimétrique de détermination du taux d'hémoglobine A_{1c} (45).

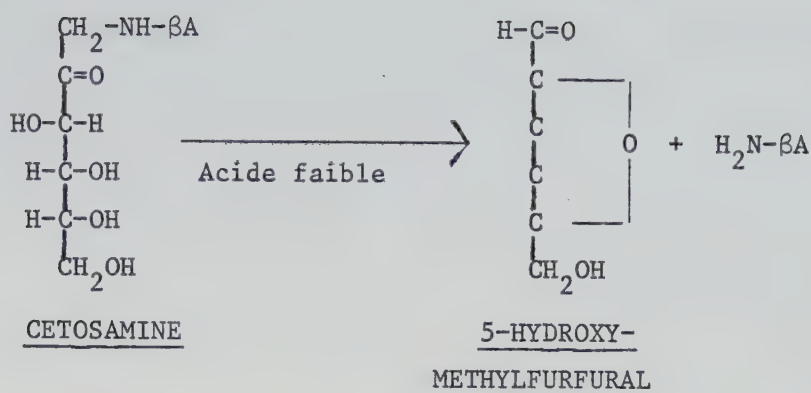


FIGURE 2.

Koenig et Blobstein (75) ont analysé la structure de l'hémoglobine glycosylée par proton N.M.R. (nuclear magnetic resonance). Ils obtinrent le NH_2 terminal dipeptide de la chaîne bêta : R. Val. His. (radical valine histidine), en réduisant l'hémoglobine $\text{A}_{1\text{c}}$ par le borohydrure, et comparèrent les techniques de chromatographie gazeuse et les spectres en proton N.M.R., avec des modèles synthétiques composés. Leurs analyses plaident fort en faveur de la théorie du réarrangement d'Amadori.

IV - BIOSYNTHESE DE L'HEMOGLOBINE $\text{A}_{1\text{c}}$ GLYCOSYLEE.

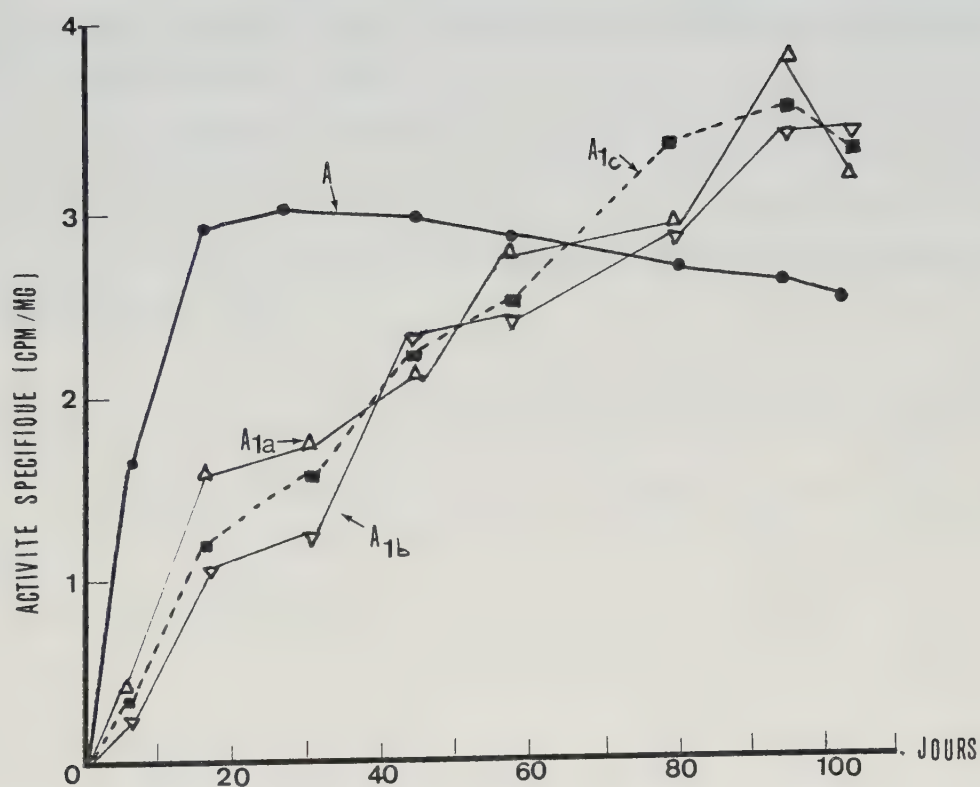
L'analyse structurale de l'hémoglobine $\text{A}_{1\text{c}}$ glycosylée montre qu'elle résulte d'une condensation entre glucose et hémoglobine (43).

Il était intéressant de savoir à quel stade de la maturation du globule rouge et de l'hémoglobine cette modification survenait et si le phénomène subissait une médiation enzymatique (15).

Ceci fut éclairci par plusieurs travaux :

- L'incubation in vitro de suspensions de réticulocytes humains et de moelle osseuse en présence d'acides aminés marqués par la leucine tritiée et le fer 59, montra que l'activité spécifique de l'hémoglobine $\text{A}_{1\text{c}}$ glycosylée était significativement plus basse que celle de l'hémoglobine A, indiquant bien que la glycosylation était un phénomène post-translationnel (14).

- La cinétique de la transformation d'hémoglobine A en hémoglobine $\text{A}_{1\text{c}}$ glycosylée in vivo fut démontrée par injection de ^{59}Fe -transferrine à un sujet volontaire normal, et en suivant la radioactivité spécifique des composants majeurs et mineurs de l'hémoglobine sur une période de cent jours (14, 49).



Marquage in vivo des hémoglobines A_{Ia} (Δ — Δ), A_{Ib} (∇ — ∇), A_{Ic} ($\blacksquare$ --- $\blacksquare$), et A ($\bullet$ — $\bullet$) chez un sujet normal, par la Fe^{59} transferrine

D'APRES BUNN ET COLL. (14)

FIGURE 3.

L'activité spécifique de l'hémoglobine A augmente jusqu'à un maximum en quinze jours, puis reste quasiment constante durant les quatre-vingt dix autres jours. Ce schéma est compatible avec l'érythropoïèse normale où une grande quantité d'hématies sont formées puis restent stables jusqu'à leur disparition au bout de 120 jours environ (figure 3).

Par contre, l'activité spécifique de l'hémoglobine A_{1a} , A_{1b} et A_{1c} augmente progressivement, rejoignant celle de l'hémoglobine A au 60ème jour. Puis l'activité spécifique de ces composants mineurs dépasse celle de l'hémoglobine A.

Tout ceci permet d'affirmer que les composants mineurs de l'hémoglobine sont formés progressivement, lentement et irréversiblement durant les 120 jours de la vie du globule rouge.

Le fait que l'hémoglobine A_{1c} soit accumulée tout au long de la vie de l'hématie explique que les jeunes globules rouges aient des taux d'HbA_{1c} plus faibles que les vieux (Tableau II), et que les patients ayant des hématies de courte durée de vie (anémies hémolytiques) aient un taux d'HbA_{1c} inférieur aux sujets normaux (42).

Variétés d'érythrocytes	Taux de A_1 (a+b)	Taux de A_{1c}
Les 10% des plus jeunes des globules rouges.	$1,2 \pm 0,2 \%$	$3,1 \pm 0,8 \%$
Les 10% des plus âgés des globules rouges.	$1,8 \pm 0,4 \%$	$6,0 \pm 1,1 \%$

TABLEAU II. Teneur des hématies jeunes et âgées en Hb glycosylée
(d'après Fitzgibbons et Coll) (42).

- La lenteur de la glycosylation de l'hémoglobine circulant dans les globules rouges, fait supposer que le processus est une condensation non enzymatique de deux réactifs abondants : l'hémoglobine d'une part, le glucose d'autre part. Ceci fut appuyé par les travaux de plusieurs auteurs dont Fluckiger et Winterhalter (45) qui firent incuber de l'hémoglobine purifiée et du glucose marqué au carbone 14, ce qui aboutit à la formation d'hémoglobine A_{1c} glycosylée, identifiée par étude chromatographique.

- Dolhofer et ses collaborateurs (35) ont affirmé que la formation de

$1'HbA_{1a+b}$ et HbA_{1c} était directement proportionnelle à la quantité de glucose ajouté au milieu jusqu'à la concentration de 46,6 g/l.

- D'autre part, les études avec le glucose 6-phosphate marqué au carbone 14 (60) ont permis de constater que sa combinaison avec l'hémoglobine A_1 pour former HbA_{1a2} était encore plus spécifique que la synthèse de l'hémoglobine A_{1c} ; cette combinaison est maximale en présence d'hémoglobine désoxygénée et privée de phosphates anorganiques.

Cependant, l'adjonction de 2-3 diphosphoglycérate (régulateur important de la fonction du pigment sanguin) au milieu d'incubation diminue considérablement la synthèse de l'hémoglobine A_{1a2} (11, 115).

Notons aussi que la concentration de G6P dans le globule rouge est 200 fois plus faible que celle du glucose, mais se combine 100 fois plus vite que celui-ci. Ces faits expliquent que la teneur des globules rouges en hémoglobine A_{1a} est beaucoup plus faible qu'en hémoglobine A_{1c} (60).

De ce fait, certains auteurs (75, 115) avaient pensé que l' HbA réagissait d'abord avec le G6P pour former HbA_{1b} qui était ensuite déphosphorylée pour former l' HbA_{1c} .

Ces travaux furent démentis par ceux de McDonald et ses collaborateurs (93) qui affirmèrent que l' HbA_{1c} ne pouvait être que le fruit d'un procédé de synthèse non enzymatique par condensation entre glucose et hémoglobine.

L'ensemble de ces conclusions permet d'avancer que la biosynthèse des hémoglobines glycosylées est un processus de nature non enzymatique, indépendant d'un contrôle génétique (48).

Le taux de glycosylation étant proportionnel à la concentration intra-érythrocytaire de glucose, il s'en suit que le pourcentage d'hémoglobine A_{1c} correspond à l'intégration des variations de la glycémie au cours de la vie du globule rouge (127).

Les mécanismes de la glycosylation de l' HbA chez les sujets normaux comme chez les diabétiques ne sont certainement pas encore parfaitement élucidés et Graf (57) suggère la possibilité d'un système de glycosylation saturable chez l'homme.

Graf (57) montre que le taux d' HbA_{1c} augmente avec l'âge, comme le laissait prévoir l'altération de la tolérance glucidique et l'élévation de la glycémie avec le temps. La relation entre glycohémoglobine et glycémie à jeun doit être curviligne ; c'est ce qu'il démontre par une courbe décrivant un système de glycosylation non enzymatique, saturable chez l'homme. Une concentration de 18 g/l de sucre correspondrait à la demi-glycosylation maximale, avec une limite théorique au pourcentage d'hémoglobine A_{1c} qui serait de 23,1 %.

B - DIABETE SUCRE ET HEMOGLOBINE GLYCOSYLEE (6, 18, 21, 52, 53, 54, 114, 118, 119).

I - HISTORIQUE :

C'est en 1962, que Huisman et Dozy (64) observèrent les premiers, chez quatre patients diabétiques traités par tolbutamide, une augmentation du double ou du triple du taux d'HbA_{1a+b+c} .

Dans une remarquable étude en 1968, Rahbar (107), surveillant 1200 patients à Téhéran, trouva chez deux d'entre eux un composant anormal en électrophorèse sur gel d'agarose (pH 6,2 en solution tampon alcalin). Ce composant migrait près de l'hémoglobine foetale (HbF), mais ne résistait pas à la dénaturation par les alcalins, contrairement à l'HbF. Par ailleurs, il ne se distinguait pas de l'HbA en électrophorèse sur gel d'amidon. Rahbar examina alors 47 patients diabétiques et détecta chaque fois ce même composant. Par la suite il montra avec ses collaborateurs (108) que ce composant hémoglobinique présent chez les diabétiques avait les mêmes propriétés chromatographiques et électrophorétiques que l'HbA_{1c}, trouvée chez le sujet normal par Allen (2), et observèrent un taux double chez certains diabétiques.

En 1971, Trivelli (120) isole, par une nouvelle méthode chromatographique quantitative, chez 100 diabétiques, des fractions à élution rapide qui représentent l'ensemble des hémoglobines glycosylées (HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}). Le taux moyen obtenu pour l'ensemble de ces hémoglobines est de $6,5 \pm 1,5$ % chez 20 sujets normaux sans antécédent familial de diabète. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues par d'autres (22).

Pour 64 diabétiques non insulino-dépendants (DNID), ce taux s'élève à $11,1 \pm 2,9$, et pour 25 diabétiques insulino-dépendants (DID) il atteint $12,4 \pm 3,1$ %. Ces taux élevés sont sans rapport avec l'âge des patients, la durée de l'évolution de la maladie, le type de traitement, ou la présence de complications du diabète. Aucune relation ne fut faite alors entre le taux d'hémoglobine A_{1c} et la concentration en glucose sanguin. Cependant, Trivelli signale des taux d'hémoglobine A_{1c} normaux chez des diabétiques en cétose ou ayant des infections intercurrentes, responsables du déséquilibre du diabète.

En 1973, Paulsen trouve simultanément des taux élevés d'HbA_{1c} chez des enfants diabétiques insulino-dépendants et des taux normaux chez neuf enfants présentant une hyperglycémie asymptomatique, et suggère alors que les hémoglobines glycosylées pouvaient être des marqueurs génétiques spécifiques du diabète sucré (99).

Tattersall (117) en 1975, voulut savoir si cette élévation de l'HbA_{1c}

chez les diabétiques, était le reflet d'un désordre du métabolisme des hydrates de carbone ou correspondait à un désordre génétique. Il étudia donc, chez l'adulte, les proportions d'hémoglobine de jumeaux homozygotes concordants (ainsi appelés si les deux jumeaux étaient diabétiques) ou discordants (si un seul des deux l'était), qu'il sépara en trois groupes :

- 1° groupe : 16 paires de jumeaux discordants (les uns diabétiques insulino-dépendants avec 11 ans de diabète, les autres ayant des hyperglycémies provoquées orales (HGPO) normales).

- 2° groupe : 10 paires de jumeaux concordants (insulino-dépendants avec 21 ans de diabète).

- 3° groupe : 4 paires de jumeaux diabétiques non insulino-dépendants avec 5 ans de diabète.

Le dosage des hémoglobines glycosylées fut fait selon la méthode de Trivelli.

Tous les diabétiques insulino-dépendants (concordants ou discordants) avaient des taux d'hémoglobine glycosylée sensiblement plus élevés que ceux des groupes témoins. Les taux obtenus chez les jumeaux discordants non diabétiques étaient sensiblement les mêmes que ceux obtenus chez les groupes témoins. Donc, il put en déduire que l'existence d'une augmentation de l'HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c} chez la plupart des diabétiques, dépendait d'un désordre métabolique et non d'une anomalie génétique. Tattersall constata que si certains diabétiques avaient des valeurs proches de la normale, les taux les plus élevés étaient ceux des patients les moins bien contrôlés, et conclut en posant une hypothèse : les taux d'hémoglobine glycosylée proches de la normale ne seraient-ils pas le reflet d'un meilleur contrôle du diabète ?

II - HEMOGLOBINE GLYCOSYLEE ET CONTROLE DU DIABETE :

En 1976, Koenig (74) confirme que l'élévation des hémoglobines glycosylées est liée au désordre du métabolisme glucidique, car elle s'observe de manière identique chez toutes sortes de souris diabétiques, que leur diabète soit d'origine génétique ou induit par des drogues cytotoxiques pour les cellules bêta Langerhansiennes (streptozocine).

Il observe que les souris diabétiques adultes (C 57 BL / KST db/db) ont des taux accrus d'un composant mineur de l'hémoglobine (à migration rapide) comparativement aux souris de référence (Wild type) non diabétiques. Ce composant, dont le taux est accru, a une mobilité chromatographique semblable à l'hémoglobine A_{1c} humaine.

Il montre que les animaux db/db, qui avaient des taux normaux d'HbA_{1c}, présentaient au sevrage un accroissement de ces taux, environ quatre semaines après le début de l'hyperglycémie. L'HbA_{1c} de souris est aussi formée par une modification post-synthétique de l'HbA durant toute la vie du globule rouge en circulation, et la vitesse de synthèse est plus grande chez les souris diabétiques que chez les souris saines. Le taux d'HbA_{1c} était normal chez la souris non diabétique obèse (C 57 BL/6J ob/ob) et seul un accroissement provisoire fut observé chez des souris au diabète transitoire (C 57 BL/6J db/db). Les taux accrus d'HbA_{1c} chez les souris non obèses porteuses d'un diabète induit chimiquement, renforce l'idée que l'accroissement de l'HbA_{1c} est secondaire à l'état diabétique.

Mais, ces auteurs confirmèrent l'absence de relations entre l'accroissement de l'HbA_{1c} et l'importance de l'hyperglycémie, la durée du diabète, l'âge et le poids des souris, et supposèrent qu'un facteur "humoral", chez la souris diabétique, stimulait la synthèse de l'HbA_{1c}.

Les observations ci-dessus furent clarifiées par l'établissement de la structure de l'HbA_{1c}, comme une addition de glucose à l'hémoglobine A par le biais d'une base de Schiff, suivie d'un réarrangement d'Amadori. La stabilité de la configuration cétoamine et les mesures d'HbA_{1c} dans les globules rouges plus ou moins jeunes rendirent évident que l'HbA_{1c} s'accumulait tout au long de la vie du globule rouge circulant.

Donc, les montants cumulés de l'HbA_{1c} pourraient être directement proportionnels à la concentration de glucose intraérythrocytaire pendant une période moyenne.

Dans une étude sur la relation entre les taux d'HbA_{1c} et l'épaisseur des membranes basales des capillaires de muscle squelettique de diabétique, Koenig et ses co-auteurs (74, 76) démontrèrent que la concentration érythrocytaire en hémoglobines glycosylées était corrélée de façon hautement significative avec le pic d'hyperglycémie et la surface délimitée par la courbe d'hyperglycémie provoquée. Une corrélation existait également avec les glycémies à jeun. En fait, glycémie à jeun et tolérance glucidique sont des facteurs dépendants et leur corrélation respective avec le taux d'HbA_{1c} ne pouvait que refléter leur interdépendance. D'ailleurs, en utilisant des coefficients de corrélation partielle, la réponse à l'hyperglycémie restait liée de façon très significative avec le taux d'HbA_{1c} alors que la relation avec la glycémie à jeun perdait de sa signification.

Cependant, si cette approche confirmait une corrélation entre HbA_{1c} et contrôle du diabète, elle ne fixait pas la relation temporelle existant entre les deux.

Koenig et coll (77), dans une première étude, tentèrent d'apprécier cette relation. Cinq patients diabétiques furent hospitalisés en état de déséquilibre et une amélioration notable du contrôle fut obtenue en ménageant soigneusement le régime, l'exercice et l'administration de l'insuline. Plusieurs critères permettaient de juger cette amélioration :

§ Mesure quantitative de la glycosurie, recherchée 4 fois par jour au moyen du clinitest, l'addition des résultats formant l'index hebdomadaire de glycosurie.

§ Mesure quantitative de la glycosurie des 24 heures trois fois par semaine.

§ Mesure de la glycémie à jeun et post-prandiale une fois par semaine.

§ Détermination d'un index glycémique (somme des glycémies mesurées juste avant et une heure après chacun des trois repas), calculé en début d'hospitalisation puis après correction du déséquilibre.

Les résultats sont nets et montrent une diminution franche des taux d'HbA_{1c} d'une part, et à un moindre degré d'HbA_{1a+b}, approximativement quatre semaines après le début de l'amélioration du contrôle glycémique.

Par la suite, Gabbay et coll (50) entreprirent une étude sur 220 diabétiques insulino-dépendants. Dans un premier temps, ils montrèrent que si les taux d'HbA_{1c} obtenus chez le diabétique ($10 \pm 1,9\%$) étaient deux fois plus élevés que chez le sujet normal ($4,9 \pm 0,7\%$), les taux d'hémoglobines A_{1a} et A_{1b} étaient également élevés chez le diabétique de manière significative ($3,2 \pm 0,7\%$ pour $2,1 \pm 0,4\%$ chez le sujet normal). Cette corrélation significative entre taux d'HbA_{1a} et A_{1b} d'une part et HbA_{1c} d'autre part tendait à confirmer que les hémoglobines A_{1a} et A_{1b} sont, elles aussi, formées par modification post-synthétique de l'hémoglobine A.

Dans un deuxième temps, ils étudièrent la relation entre les taux d'hémoglobine glycosylée et le contrôle du diabète, apprécié sur les glycosuries de 24 heures recueillies un mois, deux mois et trois mois avant le dosage des hémoglobines. Les relations entre ces différents paramètres furent étudiées par analyse en régression linéaire ; elles montrèrent que la concentration en hémoglobine glycosylée totale était significativement corrélée avec le taux de glucose excrété en 24 heures. La plus forte corrélation fut obtenue entre les concentrations en HbA_{1a+b+c} et les glycosuries collectées deux mois avant le dosage d'hémoglobine. Ces données suggèrent donc que le taux d'hémoglobine glycosylée reflète l'intégration de la concentration en glucose sanguin dans les semaines précédentes et représente un indice du contrôle du diabète à long terme (12, 50, 51).

Plusieurs travaux vont confirmer la relation entre le contrôle métabolique du diabète sucré dans les mois précédents et le taux d'hémoglobine A_{1c} :

- Lanoe (84) observe une corrélation significative entre un index glycosurique, évalué par mesure semi-quantitative triquotidienne de la glycosurie par clinitest sur les 8 semaines précédentes, et le taux d' HbA_{1c} .

- Vague (125) apprécie le degré de contrôle du diabète durant les 3 mois antérieurs au dosage de l' HbA_{1c} , par une mesure semi-quantitative triquotidienne de la glycosurie et retrouve une excellente corrélation entre le dosage d'hémoglobine glycosylée, effectué par isoélectrofocalisation, et la glycosurie moyenne du mois précédent ($P < 0,001$), de l'avant dernier mois ($P < 0,001$), et la moyenne des 2 derniers mois (ce qui correspond à la demi-vie des hématies). Par contre, la glycosurie du mois anté-pénultième est faiblement corrélée.

- Leutenegger confirme ces résultats et avance qu'un taux d'hémoglobine A_{1c} inférieur à 7% avec sa technique, témoigne d'un bon contrôle dans les 2 mois précédents (89).

La relation entre des critères cliniques d'équilibre du diabète sucré et de l'hémoglobine glycosylée, fut apportée par Gonen et ses collaborateurs (55, 56) : suivant 72 patients de 17 à 70 ans tous diabétiques dont 90% insulinés, il évalua l'équilibre glycémique par plusieurs critères dont un se basant sur l'estimation clinique, par le médecin traitant, du contrôle métabolique, cotée de 1 à 5 (1 : "mauvais équilibre", 2 : "passable", 3 : "assez bon", 4 : "bon", 5 : "excellent"). Il retrouve une corrélation très significative entre la note clinique et le taux d' HbA_{1c} , bien qu'il y est une divergence entre certains couples de valeurs.

L'analyse de l'évolution du taux de glycohémoglobine après un épisode de décompensation du diabète, apporte des informations concordantes :

- Si les premiers travaux montraient un retour à la normale en 10 à 12 semaines (77), Ditzel (31), chez 10 diabétiques nouvellement découverts, obtient après un régime adéquat et traitement insulinique une chute du taux d' HbA_{1c} de 11,4 à 5,5% en 25 à 80 jours alors que la glycémie fut ramenée à la normale en 2 semaines. Petersen (105) confirme ces résultats chez 7 patients alors que pour d'autres auteurs, la normalisation se fait en 1 à 2 mois (88, 89, 100).

- Vague (124), à l'aide d'un pancréas artificiel, obtient la régularisation du niveau d' HbA_{1c} en 4 semaines alors que sous insulinothérapie stricte quotidienne cette normalisation se fait en 6 semaines.

- Plus récemment, certains auteurs (8) ont obtenu une diminution significative du taux d'hémoglobine A_{1c} en trois jours ; Bolli dosa les fractions rapides totales chez 15 sujets, avant, pendant et après traitement par pancréas endocrine artificiel type Biostator : le taux d' HbA_{1c} décroît de 9,6 à 8,5% chez

6 patients diabétiques en équilibre moyen et de 13,7 à 12,6% chez 5 autres diabétiques totalement déséquilibrés, la normalisation de l'hémoglobine se faisant progressivement sur 60 jours.

- Ceci suggère qu'un taux élevé d'hémoglobine A_{1c} peut être abaissé significativement très tôt par un strict contrôle du diabète, en accord avec les travaux de Karamanos (71). Cet abaissement peut être expliqué par la diminution de la durée de vie du globule rouge chez le diabétique, le renouvellement plus rapide de l'hémoglobine chez ce même diabétique, sans compter l'apparition en 3 jours d'un pool d'hématies jeunes faiblement chargées en glycohémoglobines (il faudrait également tenir compte du coefficient de variation du taux d'hémoglobine glycosylée qui, d'après notre étude, peut dépasser 10% en microchromatographie).

- Mais contrairement aux dires de certains auteurs (116), cette baisse rapide ne s'accompagne pas d'un processus de déglycosylation rapide de l'hémoglobine, bien qu'on sache depuis Bunn (14) qu'un petit pourcentage d'hémoglobine est déglycosylé in vivo et en quantité négligeable.

- Enfin, pour Gonen (56) les fluctuations instantanées du niveau glycémique pourraient influencer le taux d'hémoglobine glycosylée, indépendamment de la concentration moyenne en glucose, puisqu'il existe une corrélation significative entre la déviation standard de la glycémie moyenne enregistrée pendant 12 heures et le taux d'HbA $_{1c}$.

Le fait qu'il existe chez le sujet normal, pour certains auteurs, une corrélation entre le taux d'hémoglobine A_{1c} et la glycémie à jeun, suggérerait que, chez les diabétiques bien contrôlés, chaque modification de la glycémie pourrait induire des modifications de l'hémoglobine A_{1c} (59). Le simple test de tolérance au glucose paraît capable d'entraîner une élévation de l'hémoglobine A_{1c} chez les sujets normaux, 30 jours après l'épreuve : Macquart et collaborateurs rapportent les résultats observés chez 15 sujets après une charge orale de 75 g de glucose. Ils objectivent une élévation significative de plus d'un point de l'HbA $_{1c}$ à la 4^e semaine, avec retour à la normale à la 6^e semaine (94).

Toutes ces recherches récentes laissent penser que le dosage de l'hémoglobine A_{1c} pourrait intervenir également dans le dépistage du diabète. Koenig et ses collaborateurs (78) avaient déjà montré qu'il existait une corrélation hautement significative entre le taux d'hémoglobine glycosylée et le test de tolérance au glucose. Des travaux récents confirment ces données (34, 38, 90).

Le dosage d'hémoglobine glycosylée pourrait, s'il est effectué en même temps que le test de tolérance au glucose, accroître la sensibilité de ce dernier examen (38). Ainsi Koenig (78) conclut que le taux d'HbA $_{1c}$ reflète, probablement mieux que la glycémie à jeun ou le résultat à une HGPO, la glycémie moyenne journalière et le degré de tolérance aux hydrates de carbone.

III - EFFET DE LA GLYCOSYLATION SUR LA FONCTION D'HEMOGLOBINE ET SIGNIFICATION DE L'HEMOGLOBINE GLYCOSYLEE (3).

Dès 1971, Trivelli (120) avait supposé que l'augmentation des hémoglobines glycosylées chez le diabétique pouvait être en relation avec les dépôts de glycoprotéines inhabituelles sur les membranes basales des reins de sujets diabétiques ; c'est à dire que les glycohémoglobines seraient un autre exemple de ces glycoprotéines inhabituelles retrouvées chez le diabétique. Koenig et Cerami ont voulu approfondir le mécanisme des complications du diabète sucré ; ils pensaient que les glycosylations protéiques, semblables à celle de l'hémoglobine, pouvaient expliquer bien des anomalies du diabète (dysfonctionnement leucocytaire ou plaquettaire, épaissement des membranes basales, altération de la structure ou de la fonction de certaines protéines spécifiques). Ainsi ils ont mesuré chez 22 diabétiques (76) l'épaisseur de la membrane basale des capillaires des muscles squelettiques et dosé le taux d'hémoglobine glycosylée ; cependant, il n'existe aucune corrélation entre ces deux paramètres, ceci pouvant s'expliquer par le fait que l'hémoglobine glycosylée reflète l'équilibre du diabète dans les 40 jours précédents alors qu'il faut des années d'évolution pour qu'il y est un épaissement des membranes basales.

Cependant, d'autres études ont permis une meilleure compréhension du rôle non négligeable de l'hémoglobine glycosylée dans le développement de la micro-angiopathie diabétique (32, 33).

L'hémoglobine A_{1c} , dont le taux est augmenté dans le diabète sucré, a une affinité accrue pour l'oxygène ce qui diminue sa faculté de le délivrer aux tissus (11). Pour répondre à ce stress hypoxique, une oxygénation normale des tissus pourrait être réalisée :

- Soit en augmentant la concentration en hémoglobine circulante,
- Soit en augmentant le débit sanguin,
- Soit en augmentant certains facteurs normalisant la courbe de dissociation de l'oxygène, tel le 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG), important régulateur de la fonction hémoglobinique érythrocytaire.

Si l'augmentation du débit sanguin a été décrite dans certains territoires et notamment au niveau de la rétine dans la maladie diabétique (33), Ditzel et ses collaborateurs ont montré qu'en plus de l'augmentation de l'hémoglobine A_{1c} , il y avait un accroissement significatif de l'hémoglobine totale et du 2-3 DPG, dont le taux était augmenté de 30% chez le jeune diabétique pour un même taux d'hémoglobine (32).

Mais, malgré cette élévation du taux de 2-3 DPG érythrocytaire, la pression de demi-dissociation (P50) n'est pas augmentée, contrairement à ce qui se passe chez le témoin, preuve de la présence d'hémoglobine à affinité accrue pour l'oxygène chez le diabétique. Ceci suppose donc que l'organisme diabétique répond à l'accroissement de l'HbA_{1c} comme s'il s'agissait d'un stimulus hypoxique.

Les facteurs inhibant la formation du 2-3 DPG érythrocytaire sont :

- La diminution de la concentration plasmatique en phosphates anorganiques,
- Une augmentation de la concentration sanguine en ions hydrogène.

Lors de l'injection d'insuline, il y a une entrée concomitante de glucose et de phosphates anorganiques dans la cellule, d'où une chute de leur concentration plasmatique entraînant en cascade la diminution du 2-3 DPG et une affinité accrue de l'hémoglobine pour l'oxygène. Cette hypothèse est confirmée par Ditzel (31), qui montre, qu'après la première injection d'insuline, la P50 diminue de manière significative ($P < 0,001$) chez 40 diabétiques insulinés. Cette réaction est encore plus évidente chez le diabétique en état d'acidocétose où, outre l'augmentation sanguine en ions hydrogène, il existe une diminution significative du phosphate intracellulaire, et de faibles taux de 2-3 DPG. Chez ces sujets acidocétosiques, la première injection d'insuline induit une hypophosphatémie prolongée qui aggrave encore la diminution de la P50. Tout ces phénomènes majorent une hypoxie, déjà entamée par une déshydratation et une hypoperfusion tissulaire conséquences de l'acidocétose, modifiant la courbe de dissociation de l'oxygène en augmentant l'affinité de l'hémoglobine pour celui-ci ; il en résulte que chez le diabétique il se produit une élévation du taux d'hémoglobine A_{1c} ; elle n'est pas compensée malgré l'augmentation du 2-3 DPG. Les injections de doses inappropriées d'insuline entraînent une diminution transitoire du 2-3 DPG majorant l'hypoxie, d'où l'intérêt d'une régulation optimale de l'équilibre diabétique.

L'augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène affecterait plutôt le versant veineux de la microcirculation, entraînant des conditions d'oxygénation semblables à celles d'une stase veineuse. Celle-ci est due pour une part à l'hyperviscosité sanguine par hyperagrégabilité érythrocytaire, du fait de la présence de protéines plasmatiques anormales (83). A partir de cette dilatation veineuse, il se produirait une dilatation artériolaire et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Toutes ces altérations sont retrouvées dans les manifestations fonctionnelles précoces de la microangiopathie diabétique. Les modifications des membranes basales pourraient pour une part résulter de ces modifications rhéologiques et des échanges gazeux locaux (32).

D'autre part, si l'hémoglobine A peut modifier sa structure pour donner l'hémoglobine A_{1c}, d'autres protéines pourraient subir la même glycosylation. L'hémoglobine A_{1c} fournirait donc un modèle théorique d'étude de la pathogénie des complications du diabète sucré (105).

Plusieurs travaux ont montré qu'il n'y avait aucune corrélation entre le taux d'hémoglobine glycosylée et l'existence ou non d'une rétinopathie diabétique (27, 128). Si dans une population de 25 diabétiques, le taux d'HbA_{1c} était significativement élevé, sans égard à la rétinopathie, Collier observa cependant une corrélation significative entre les taux d'HbA_{1c} et de fibrinogène (25). Le fait que, d'une part le fibrinogène soit significativement élevé uniquement chez le sujet diabétique présentant une rétinopathie, et d'autre part soit une glycoprotéine, corrobore la thèse selon laquelle l'hémoglobine glycosylée serait un modèle théorique de la glycosylation des protéines plasmatiques. A ce titre, il faut signaler les travaux de Yue (136) sur la glycosylation des protéines plasmatiques chez le sujet normal ou diabétique (mise en évidence par une technique colorimétrique à l'acide thiobarturique), qui montrent une corrélation très significative entre le degré de glycosylation in vivo des protéines plasmatiques et l'augmentation d'hémoglobine glycosylée. Le processus de glycosylation tient compte de la température et de la durée, mais est indépendant d'une médiation enzymatique.

Les perspectives de recherches sont très étendues, et l'hémoglobine glycosylée permet d'entreprendre toute une série de travaux concernant la pathogénie des complications du diabète et leurs relations avec le contrôle de la maladie :

- Les travaux sur le diabète et les anomalies lipidiques sont très controversées ; si, en 1977, Gabbay (50) avait observé une corrélation significative entre le taux d'HbA_{1c} et le niveau de la cholestérolémie (suggérant ainsi qu'une hyperglycémie prolongée était associée à une hypercholestérolémie), d'autres auteurs n'ont pas retrouvé plus récemment cette relation (55). Pourtant, Petersen décrit une corrélation encore plus significative entre le taux d'HbA_{1c} et le niveau de triglycéridémie (104).

Dodds et Bolmey (34), contrairement à d'autres (40), trouvent une corrélation inverse entre le taux d'High-density-lipoprotein-cholesterol et celui d'HbA_{1c}.

- Les travaux sur le diabète et la neuropathie sont eux aussi discutés (92), puisque Graf (58) trouve une corrélation entre le ralentissement de la conduction motrice péronière chez le diabétique et le taux d'HbA_{1c}, contrairement aux travaux de Darragon (26).

TECHNIQUES

A - TECHNIQUES DE DOSAGE DE L'HbA_{1c}.

I - LES PREMIERES METHODES DE DOSAGE :

Allen et ses collaborateurs (2) furent les premiers à séparer et purifier l'HbA_{1c}, utilisant la technique sur résine échangeuse d'ions type Amberlite IRC 50-acide polyméthacrylique. Les colonnes utilisées étaient de 1 x 35 cm et l'analyse s'effectuait à 6°C. L'hémoglobine était préparée selon la technique de Drabkin (36) (transformée en cyanméthémoglobine ou en oxyhémoglobine).

Deux séparations étaient nécessaires :

- La première séparation avec le tampon N°2 permettait la séparation de l'HbA₁ et de l'HbA₂. (cf. Tableau III).

- Il fallait rechromatographier l'HbA₁ avec le tampon N°4 pour obtenir l'HbA_{1a}, l'HbA_{1b}, l'HbA_{1c}.

Les différentes fractions étaient chacune collectées et analysées dans un spectrophotomètre. La durée totale des deux séparations était de 56 heures.

Clegg et Schroeder (22) ont développé une nouvelle méthode pour préparer l'hémoglobine (centrifugation du sang total, récupération des globules rouges, mise en solution saline, recentrifugation, lavage répété quatre fois avec eau distillée et toluène, centrifugation de l'hémolysat, récupération de l'oxyhémoglobine et nouvelle centrifugation). Ils utilisèrent ensuite le tampon N°5 seul pour séparer les composants mineurs de l'HbA₂, et ceci en une seule fois. Ils introduirent dans la technique la période de chauffage de la colonne à température ambiante vers la fin de l'analyse pour éluier complètement l'HbA₂. Durée totale de l'analyse : 85 heures et nécessité de 4 jours de rééquilibration du tampon N°5 entre deux analyses.

Huisman et Meyering (65) modifièrent la technique d'Allen en établissant un gradient de phosphate sodique pour l'élution de l'hémoglobine.

Schnek et Schroeder (111) utilisèrent le tampon N°6 pour retarder les composants de l'hémoglobine à migration rapide et obtinrent une meilleure séparation de l'hémoglobine A_{1c}. Le temps d'analyse était comparable à celui de Clegg et Schroeder. Schnek et Schroeder utilisaient l'hémoglobine carbone-monoxyle et notaient que cette forme était plus stable et donnait des chromatogrammes satisfaisants.

Enfin Schroeder et Holmquist (61, 62) introduisent la colonne de biorex

TAMPON	pH A 25°C	CONCENTRATION (moles/litre)			CONCENTRATION (grammes/litre)		
		Na ⁺	PO ₄	KCN	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	Na ₂ HPO ₄	KCN
N°1	7,22	0,075	0,050	0,010	3,45	3,55	0,65
N°2	7,18	0,063	0,044	0,010	3,45	2,66	0,65
N°3	7,02	0,050	0,038	0,010	3,45	1,78	0,65
N°4	6,91	0,050	0,040	0,010	4,14	1,42	0,65
N°5	6,85	0,055	0,043	0,010	4,14	1,78	0,65
N°6	6,70	0,050	0,042	0,010	4,59	1,19	0,65
N°6 A	6,82	0,083	0,069	0,016	7,58	1,96	1,07
TRIVELLI et coll.	6,42	0,196	0,150	0	14,35	6,52	0
BUNN et coll.	6,37	0,392	0,300	0	28,70	13,04	0
6A modifié	6,8	0,075	0,062	0,014	6,82	2,21	0,96
N°7	6,8				5,12	1,18	0,65

TABEAU III. PRINCIPAUX TAMPONS UTILISES POUR LA SEPARATION DES COMPOSANTS
MINEURS.

70/200-400 meshes de qualité plus fine que l'Amberlite IRC 50.

II - LES METHODES ACTUELLES DE DOSAGE :

a - La technique chromatographique de Trivelli et collaborateurs (120) :

Elle introduit la notion de tampon riche en phosphate pour éluer l'hémoglobine restante après séparation des composants rapides de l'hémoglobine. L'analyse nécessite quatre heures et demande seulement six heures de rééquilibration du tampon N°6 entre les manipulations. C'est actuellement la technique de référence.

- Préparation de l'hémolysat :

Il est préparé à partir de globules rouges lavés par hémolyse en eau distillée + toluène. Il est dialysé toute une nuit à 4°C contre un tampon à base de phosphocyanure (tampon N°6). Après dialyse, la concentration de l'hémolysat est d'environ 10 g/100 ml.

- Méthode :

On utilise une colonne de biorex 70 (2 x 17,5 cm), initialement équilibrée pendant plusieurs jours avec le tampon N°6, puis rééquilibrée avec le même tampon au moins six heures entre chaque analyse, qui s'effectue à température ambiante. On remue la surface de la couche de résine et on applique l'échantillon avec une pipette courbe sur 2 ml du tampon N°6 qui recouvre la couche de résine, suivant la méthode de Schnek et Schroeder. Deux ou trois ml d'hémolysat dialysé sont utilisés et les analyses chromatographiques sont faites en double.

Après l'élution des fractions rapides en 225 à 250 ml sur une période de trois heures, le reste de l'hémoglobine est élué avec un tampon phosphaté pH 6,42 (cf. Tableau tampon Trivelli). Les composants sont aisément repérés sur les colonnes, et dix colonnes peuvent être employées en même temps.

Les concentrations sont lues sur un spectrophotomètre type Beckman DU à 552 microns et le taux de la fraction rapide est calculé en fraction du total de l'hémoglobine éluee sur les colonnes. Tous les échantillons sont analysés simultanément par électrophorèse sur gel en tampon citraté à pH 6,2, et par électrophorèse sur gel d'amidon à pH 8,6.

- Résultats :

Cette méthode donne des résultats très satisfaisants en distinguant de façon précise les différentes HbA_{1a}, b, c. Sa reproductibilité est excellente.

b - La chromatographie automatisée : (dérivée de celle de Trivelli (127) :

- Préparation de l'hémolysat :

Elle est identique à celle décrite plus haut, sans dialyse après hémolyse.

- Méthode

On utilise une colonne de biorex 70 (0,9 x 35 cm). L'élution est obtenue en utilisant deux tampons : le tampon 6A modifié permettant la séparation du bloc HbA_{1a+b} de l' HbA , et le 2^e tampon enrichi en phosphate (14).

L'analyse se fait par un vieil analyseur d'acides aminés (Beckman 120 C). L'automatisation est complète sous le contrôle d'un programmeur à cartes perforées. Le tampon est pompé à travers la colonne suivant un débit constant de 100 ml/heure à une pression de 100 Psi. La sortie de la colonne est directement reliée à un spectrophotomètre où les fractions sont analysées à 570 nm. L'échantillon d'élution est enregistré et la proportion de chaque fraction hémoglobinique est estimée par triangulation. On utilise un échantillonneur automatique à plusieurs boucles contenant chacune 150 microlitres d'une solution d'hémoglobine à 5 g/100 ml.

L'élution complète des différentes fractions est effectuée en 45 minutes. L'équilibration des colonnes nécessite 45 minutes supplémentaires.

- Résultats :

Dans cette méthode, l' HbA_{1a} et l' HbA_{1b} ne sont pas très bien séparées. Cependant, leur taux peut être calculé approximativement, en sachant que chez le diabétique, il n'est pas exactement proportionnel à celui de l' HbA_{1c} .

L'hémoglobine A_{1c} est très bien isolée de l'hémoglobine A_{1a} et A_{1b} . Mais comme il y a quelques petites différences au niveau des colonnes de chromatographie, à température ambiante, la proportion des différents composants ne peut pas être appréciée par la hauteur du pic sur le chromatogramme ; il est préférable de calculer les résultats en intégrant l'aire sous la courbe. La reproductibilité de la méthode est satisfaisante et le taux de dispersion est d'environ 6% sur une série de dix échantillons identiques.

Le taux normal calculé chez 40 sujets non diabétiques se situe à $5,2 \pm 0,7$ (127).

c - Les techniques de microchromatographie :

(1, 20, 29, 30, 68, 82, 95, 106, 130, 131).

- Méthode :

On recueille 0,5 ml de sang sur anticoagulant (EDTA ou héparine), et on les verse dans un tube contenant une solution saline isotonique ; ils sont ensuite centrifugés à 3000 rpm pendant quelques minutes. Le surnageant est retiré et on additionne une solution hémolysante (0,1 g de poudre de savon blanc et 0,5 g de cyanure de potassium dissous dans un litre d'eau distillée). On laisse reposer à température ambiante une minute, on ajoute le tampon N°7 et on recentrifuge pendant cinq minutes.

On transfère l'hémoglobine éclaircie sur le sommet de la microcolonne biorex 70 (0,6 x 10 ou 13). On élue l' HbA_1 dans une bouteille de 100 ml du

tampon N°7 ; puis on élue le reste de l'hémoglobine dans une bouteille contenant 100 ml du tampon phosphaté du type Trivelli.

On détermine la densité optique à $\begin{cases} 414 \\ 413 \text{ NM (suivant les auteurs).} \\ 415 \end{cases}$

On obtient le taux d'HbA_{1c} en faisant le rapport :

$$\begin{array}{lcl} \text{DO} = \text{Densité optique.} & \text{D.O} & \text{HbA}_1 \times K \\ K = \text{Constante.} & \frac{\text{D.O} \quad \text{HbA}_1}{\text{D.O} \quad \text{HbA}_1 + (\text{D.OHbA} + \text{HbA}_2)} \end{array}$$

- Résultats :

Cette méthode se présente le plus souvent sous forme de trousse prêtes à l'emploi et permet un dosage en 80 minutes du pool des glycohémoglobines (HbA_{1a+b+c}). Il faut signaler qu'avec cette technique il est indispensable d'éliminer un taux d'HbF supérieur à la normale (0,8%) du fait de la proximité de migration des deux pics de glycohémoglobines et d'HbF, qui ne sont pas très bien distingués. De même, lorsque des hémoglobines anormales sont présentes, le dosage est faussé.

Le taux d'hémoglobine glycosylée chez le sujet normal dans cette méthode varie suivant les trousse et les auteurs, mais se situe aux alentours de $7,5 \pm 5\%$ (22). Il semble cependant qu'il y ait une corrélation acceptable avec les procédés de macrochromatographie utilisés en référence (1).

d - Chromatographie à haute pression en phase liquide (23, 24, 28, 39).

- Préparation de l'hémolysat :

Le sang est prélevé sur EDTA et centrifugé à une température de 4°C. On prélève le surnageant; Le culot de globules rouges est lavé (solution saline glacée), recentrifugé, lavé encore une fois, purifié au toluène et centrifugé une fois encore. La couche moyenne représente l'hémolysat purifié qui va être saturé par le monoxyde de carbone. Avant le passage sur colonne, il va être dilué par un peu de tampon 6A.

- En microméthode :

Cent microlitres de sang complet hépariné sont centrifugés. On prélève 30 microlitres du culot cellulaire que l'on lave, hémolyse et purifie au toluène ; la centrifugation au microfuge s'effectue à 4°C, puis on transfère 50 microlitres d'hémolysat dilués avec le tampon 6A sur la colonne après exposition à l'oxyde de carbone.

- Technique :

On disperse le biorex dans un tampon phosphaté (Bunn), puis on le

pompe dans une colonne de 9 mm par 8 cm, via un tube de 9 mm par 25 cm relié par un connecteur, à un flux constant de 160 ml/heure et jusqu'à une pression de pompage élevée (400 Psi). La colonne complète se compose de 9 mm par 5,8 cm de résine, laquelle est ensuite inversée et on pompe le tampon phosphate à un flux plus bas.

Le système de haute pression (cf. figure 4) comporte un bas flux d'azote qui arrive à la pompe par l'intermédiaire d'une valve à 3 voies où arrivent également le tampon phosphaté et le tampon 6A. L'hémolysat est injecté, dans le système, entre la pompe et la colonne. On envoie un flux de tampon phosphaté constant sur la colonne, après pompage, puis le tampon 6A. La séparation de l' HbA_{1a+b} , HbA_{1c} , et HbA_2 peut être effectuée en 27 ou 30 minutes. La colonne est reliée à un spectrophotomètre ; les composants mineurs sont lus à 405 nm et l' HbA_2 à 546 nm.

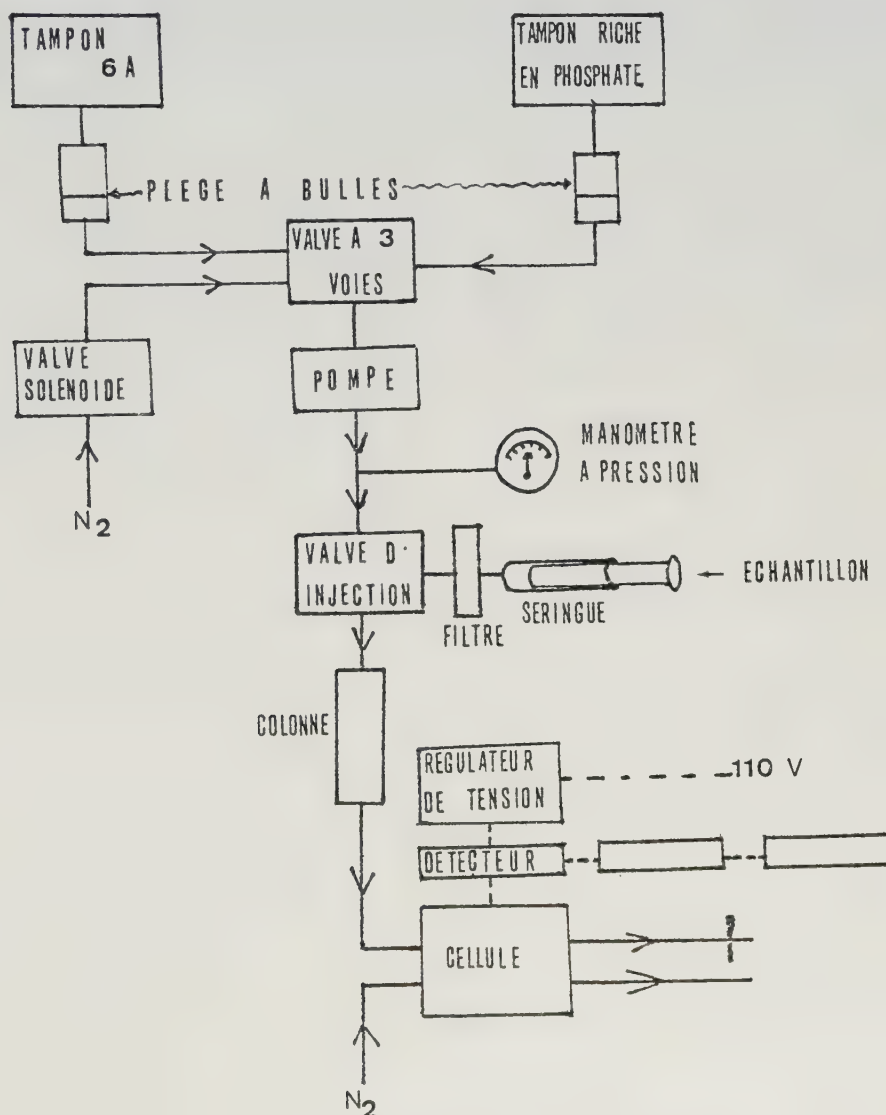


FIGURE 4.

Schéma d'un système de haute pression d'après COLE et Coll (24).

- Résultats :

Cette technique nécessite un matériel extrêmement sophistiqué et coûteux, qui limite son extension, mais qui permet un dosage fiable et rapide des composants mineurs de l'hémoglobine. En 11 minutes, l'élution de l'HbA_{1c} globale est faite, et en 27 minutes l'élution de l'HbA_{1c} seule est effectuée.

Cole et ses collaborateurs (24) ont relevé un taux moyen d'HbA_{1c} de $4,95 \pm 0,12$ (avec un coefficient de variation de 2,4%) pour un total de 36 dosages effectués chez un même sujet volontaire sur une période d'un mois. Le taux moyen d'HbA_{1a+b} était de $1,65 \pm 0,06\%$. (CV = 3,6%).

Les valeurs de l'HbA_{1c} calculées chez 10 sujets témoins sont de $5,06 \pm 0,32\%$ (pour 6,8 à 20% chez le sujet diabétique).

D'autre part, Davis et ses collaborateurs (28) ont constaté que le stockage de l'échantillon à 4°C pendant une semaine est acceptable pour le dosage de l'HbA_{1c}. Ceci est en accord avec d'autres travaux (39) qui cependant signalèrent que le taux d'HbA_{1a+b} augmente avec le stockage à 4°C alors que le taux d'HbA_{1c} reste stable.

e - Isoelectrofocalisation : (4, 5, 7, 37, 67, 81, 86, 112).

L'isoelectrofocalisation sur gel de polyacrylamide offre une nouvelle possibilité pour séparer les protéines. Elle est basée sur l'existence d'une charge de surface de celles-ci, et dans certaines conditions, permet la séparation des protéines dont les points isoélectriques varient seulement de 0,02 unités pH.

- Préparation de l'hémolysat :

Elle varie suivant les auteurs :

§ Selon la méthode de Drabkin,

§ Lavage de l'échantillon de sang, hémolyse et purification au toluène (plus ou moins adjonction d'acide citrique à 1% pH 6,9), et titrage.

- Préparation du gel :

La polymérisation du gel est entamée avec le persulfate d'ammonium ; le pH est de 6,0 à 9,0 (suivant les auteurs) : l'épaisseur du gel est de 0,5 mm ; le support est de vinylpolychloride. Pour obtenir un gel de 250 x 115 x 0,5 mm, on utilise une solution d'acrylamide contenant : de l'acrylamide, du bisacrylamide et de l'eau distillée. Pour environ 5 ml de cette solution, on ajoute des quantités déterminées d'ampholine 40% à pH 7,9 et de l'eau distillée. On dépose la mixture entre deux plaques après avoir ajouté le tétraméthyléthylènediamine (TEMED) et l'ammonium persulfate, et la polymérisation survient en quelques minutes à température ambiante.

- La séparation par électrofocalisation :

La migration électrophorétique est réalisée sur un appareil LKB

concentrations très strictes d'hémoglobine (10 g/100) pour le bon fonctionnement de la méthode. Les composés furfurals, obtenus par digestion, réagissent avec l'acide thiobarbiturique (solution à 7 grammes pour un litre d'acide oxalique) pour donner un pigment jaune qui est analysé sur spectrophotomètre (440-445 nm). Le taux d'hémoglobine A_{1c} est exprimé comme un pourcentage de l'hémoglobine glycosylée par rapport à l'hémoglobine totale (traitée de la même manière et analysée à 550 nm). Il faut que la concentration d'hémoglobine soit fixe pour que la coloration obtenue soit proportionnelle au taux d'hémoglobines glycosylées.

- Semi-automatisation :

Certains auteurs (109) ont proposé une semi-automatisation de la technique colorimétrique : Ils utilisent un échantillonneur (45/heure). Ces échantillons sont traités par un réactif (7 grammes d'acide thiobarbiturique pour un litre d'acide oxalique mélangés pendant deux heures à 35°C, puis décantés une nuit à 2°C et filtrés). La chaîne d'automatisation utilise un système de pompe et de colorimètre pour accélérer le traitement des échantillons digérés par le réactif.

- Résultats :

Il semble que cette technique ne donne pas toujours des résultats concordants avec ceux des méthodes de référence (1).

g - Détermination radioimmunologique de l'HbA_{1c} (66):

C'est une technique décrite récemment par Cerami et ses collaborateurs, basée sur la préparation d'un antisérum dirigé contre l'HbA_{1c}.

- Préparation de l'hémolysat :

Il est réalisé par lavage des globules rouges en solution saline, avec lyse hypotonique puis centrifugation. La concentration d'hémoglobine totale est mesurée sous forme de cyanméthémoglobine.

- Production de l'antisérum :

Elle est réalisée en immunisant un mouton par injection bi-hebdomadaire par voie intradermique de 10 mg d'HbA_{1c} humaine purifiée avec 3 ml d'eau et 2 ml d'adjuvant de Freund, pendant 7 semaines en répartissant chaque injection sur 25 sites intradermiques. Le sérum est récupéré et stocké à -180°C. Ceci forme l'antisérum original.

- Réactifs pour le dosage radioimmunologique :

§ Le TBS : le tri-hydroxyméthyl-aminométhane + NaCl, pH 8,3.

§ Le PBS : le phosphate sodique + NaCl, pH 7.

§ Le BGG : gammaglobuline bovine dans du TBS.

§ Le PCG : phosphate de soude, cyanure de potassium, pH 7: tampon

utilisé pour le stockage des hémolysats à -20°C .

§ Le sulfate d'ammonium

§ Les antisérums : l'antisérum original est absorbé à maintes reprises avec de l'HbA_{1c} immunoabsorbante ; ceci permet de séparer un antisérum comportant des anticorps anti A_{1c} et d'autre part un antisérum anti A comportant les anticorps qui se sont liés avec l'immunoabsorbant après élution et dialyse avec le PBS. L'antisérum anti A réagit avec les antigènes communs HbA_{1c} + HbA. Les antisérums sont dilués et titrés avec le BGG.

§ L'antigène original : il est fabriqué à partir d'HbA_{1c} obtenue par chromatographie, puis purifiée et marquée par la chloraline T à l'iode 125 radioactif et enfin stockée en solution de tampon PCG ; juste avant l'utilisation, il est dilué avec de l'hémoglobine de mouton.

§ Hémoglobines tests : pour étudier l'inhibition primaire des antisérums, on utilise des hémoglobines purifiées (A_{1a} A_{1b} + glycohémoglobines de chien et de souris), rangées par concentrations croissantes.

- Méthodes radioimmunologiques :

1° - On fait incuber de l'antisérum et de l'hémoglobine test durant 30 minutes à température ambiante.

2° - On ajoute de l'antigène original qui incube aussi 30 minutes à température ambiante.

3° - On ajoute le TBS et le sulfate d'ammonium dans chaque tube, on récupère les immuns complexes précipités par centrifugation. La radioactivité du surnageant est calculée en coups dans un millilitre et exprimée comme un pourcentage du total des coups.

- Spécificité, reproductivité, sensibilité :

L'antisérum de mouton développé contre l'hémoglobine A_{1c} distingue cette fraction hémoglobinique du composant majeur HbA. Cependant, une réaction croisée partielle est observée avec l'HbA_{1a}, l'HbA_{1b} et les glycohémoglobines animales :

§ L'antisérum anti A_{1c} distingue très correctement l'HbA de ses dérivés glycosylés ; l'hémoglobine A_{1c} est beaucoup plus efficace pour bloquer l'antisérum, mais l'HbA_{1a} et l'HbA_{1b} ont une réactivité respectivement de 1/10 et de 1/20. Les quatre fractions hémoglobiniques (A, A_{1a}, A_{1b}, A_{1c}) montrent une efficacité identique pour bloquer l'antisérum anti A

§ L'HbA_{1c} de chien et de souris ont à peu près 15% de réactivité vis à vis de la fraction humaine (pour la moitié du blocage maximum du sérum anti A_{1c}). Le composant A dans ces espèces n'a aucune activité et les hémoglobines A_{1a+b} de souris et de chats ont des réactivités intermédiaires.

§ Le dosage de l'HbA_{1c} sur 14 hémolysats par méthode radioimmunologique et chromatographique révèle une bonne corrélation entre les deux méthodes.

Cette méthode apporte donc un certain nombre d'avantages : elle semble spécifique et reproductible puisque jusqu'ici elle permet d'étudier 20 échantillons ou plus, dans des conditions identiques, pendant une journée.

h - Certaines méthodes permettent de mettre en évidence facilement des hémoglobines glycosylées sans toutefois pouvoir les doser. Elles sont basées par exemple sur l'adjonction d'eau à 37°C et d'isopropanolol à l'hémolysat (16).

III - LIMITES DU DOSAGE ET PARTICULARITES DUES AU TERRAIN :

- L'âge n'intervient pas dans l'interprétation du dosage de l'hémoglobine glycosylée chez les diabétiques, puisque les taux d'HbA_{1c} obtenus chez les enfants sont superposables à ceux des adultes (100) ; par contre, à partir de l'âge adulte, le taux de glycohémoglobines augmente progressivement avec l'âge chez les sujets normaux mais pas chez les diabétiques (57).

- Toutes les causes d'hémolyse qui diminuent la durée de vie des érythrocytes falsifient les dosages d'hémoglobine glycosylée (14) ; à ce titre, il faut signaler les hémolyses d'origine médicamenteuse qui abaisseraient assez fréquemment le taux d'HbA_{1c} et qui font l'objet de plusieurs travaux actuellement (72).

- Les sujets présentant un taux d'hémoglobine F élevé dans le cadre d'une hémoglobinopathie voient également leur dosage faussé, mais ce en fonction des méthodes de détermination utilisées, puisque l'isoélectrofocalisation et certaines méthodes chromatographiques permettent de ne pas méconnaître une hémoglobinopathie associée.

- Paulsen (99) a décrit une élévation de l'HbA_{1c} chez les enfants atteints de fibrose kystique, dont l'HGPO était normale. Une augmentation du taux des hémoglobines glycosylées a été décrite dans quelques cas de leucémies myéloïdes chroniques ou lymphoïdes, de pancytopénie, de polycythémies essentielles et de certaines déficiences en fer (35) ; quant à l'élévation de l'HbA_{1c} chez les insuffisants rénaux et les dialysés chroniques relevée par Casparie (17), elle peut être liée en fait à l'hyperglycémie coexistante.

- En ce qui concerne la femme enceinte le taux d'HbA_{1c} semble élevé modérément chez la parturiente normale (6,97%), chez la parturiente non diabétique obèse (6,98%) et moyennement élevé chez la diabétique enceinte (8,77%), cependant bien au dessus du taux d'HbA_{1c} de la femme non enceinte (5,68%) ; il existe de plus une différence significative entre les taux observés chez la femme diabétique non enceinte (12,72%) et la parturiente diabétique. Cette chute du taux d'HbA_{1c} chez les diabétiques enceintes de plus de 30 semaines serait le reflet d'un meilleur équilibre du diabète (113) puisque la glycémie à jeun chez la parturiente diabétique est bien plus basse que celle de la diabétique non enceinte

($6,7 \pm 1,7$ pour $10,7 \pm 2,2$ respectivement (73)). Plus récemment Widness et ses collaborateurs (133) ont mis en évidence une corrélation positive entre le poids du nouveau-né et le taux sanguin maternel d'HbA_{1c} dosé pendant le dernier trimestre de la grossesse. La surveillance de ce taux pendant la grossesse permettra de contrôler au mieux l'hyperglycémie. Enfin un taux élevé d'HbA₁ en début de gestation serait de mauvais pronostic pour l'enfant (87).

B - COMPARAISON DE DEUX METHODES DE DOSAGE DE L'HbA_{1c}.

I - INTRODUCTION

La description de ces différentes méthodes de dosage et de leurs résultats souligne bien la difficulté d'obtenir une technique à la fois précise, rapide et applicable en routine dans tous les laboratoires.

Depuis dix ans la méthode décrite par Trivelli est unanimement reconnue comme celle de référence, mais est limitée dans son extension par la durée de manipulation. Les techniques sophistiquées, "en haute pression", de par leur coût et leur complexité ne peuvent pas non plus prétendre à une large diffusion.

Les méthodes microchromatographiques semblent donc les mieux appropriées pour équiper les plus petits laboratoires, alliant rapidité, économie et facilité d'emploi.

Il apparaissait donc intéressant de tenter de savoir si, à ces qualités, s'ajoutaient la précision et la fiabilité sur un échantillon donné.

Le taux sanguin d'hémoglobine glycosylée a été ainsi déterminé, par la technique de Trivelli et par une technique utilisant la chromatographie sur micro-colonnes prêtes à l'emploi, chez 32 sujets témoins et 16 diabétiques traités.

Nous avons étudié les relations entre les deux techniques de dosage dans ces différentes populations et essayé d'évaluer la variation du taux sanguin d'HbA_{1c} pour chaque méthode sur trois jours consécutifs, chez 10 sujets témoins.

II - SUJETS ETUDIES

16 diabétiques traités et 32 sujets témoins normaux ont été étudiés.

Parmi les sujets diabétiques, 11 étaient insulino-dépendants, 3 femmes et 8 hommes, âgés de 29 à 69 ans, avec une moyenne d'âge de 43 ans ; 5 étaient non insulino-dépendants, 3 hommes et 2 femmes âgées de 37 à 80 ans, avec une moyenne d'âge de 60 ans.

Le lot témoin comprenait 17 femmes et 15 hommes entre 20 et 50 ans, avec une moyenne d'âge de 26 ans, sans antécédent familial de diabète ; leur poids, sauf pour deux d'entre eux, n'excédait pas de 15% le niveau idéal ; 6 femmes recevaient des oestroprogestatifs.

Pour tous les sujets étudiés, une détermination de l'hémoglobine glycosylée a été effectuée sur le même échantillon de sang, par la technique Biorad et la méthode de Trivelli. On s'est assuré de l'absence d'hémoglobine anormale par électrophorèse, et de l'existence d'un taux d'hémoglobine suffisant pour éliminer une anémie.

Chez 10 témoins, en outre, la mesure a été répétée sur 3 prélèvements

consécutifs à 24 heures d'intervalle.

Le sang a été recueilli par ponction veineuse au pli du coude, en début de matinée, à jeun.

III - METHODES

Le dosage de l'hémoglobine A_{1c} a été réalisé au laboratoire central de biochimie de l'hôpital de l'Antiquaille (Pr.MALLEIN.), par Mr. Goujon.

Le sang prélevé sur héparinate de lithium est centrifugé pendant 5 minutes pour récupérer le culot globulaire.

- Technique de Trivelli modifiée :

L'hémolysat est préparé par lyse hypotonique à partir du culot de centrifugation, après 3 lavages des hématies, en ajoutant 1 ml d'hématies à 5 ml d'eau distillée ; il est ensuite lavé deux fois par 4 ml de toluène de sorte que la concentration finale en hémoglobine soit comprise entre 4 et 5 g/100 ml.

Une colonne 0,9 x 35 cm est remplie de résine Biorex 70 (Biorad laboratoire) 200.400 meshes. Elle est reliée à une pompe de type Technicon, puis à un collecteur de fractions de type LKB.

100 microlitres d'hémolysat sont déposés à la surface de la résine. L'élution est effectuée par le tampon "développer N°6" pH 6,72 ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$: 6,82 g/l ; $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$: 2,21 g/l ; KCN : 0,96 g/l) avec un débit de 2 ml par minute.

On recueille après 15 minutes des fractions de 1 ml dont la densité optique est lue à 415 nm et permettant d'obtenir 2 pics : le premier contient les hémoglobines A_{1a} et A_{1b} , le second l'hémoglobine A_{1c} .

Le reste de l'hémoglobine est ensuite élué par le tampon "développer N°4" pH 6,42 ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$: 14,35 g/l ; $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$: 8,4 g/l).

Les fractions correspondantes à l'Hb A_{1c} sont regroupées, et on en détermine le volume et la densité optique.

Cent microlitres de l'hémolysat initial sont ensuite dilués dans le même volume de tampon "developer N°6". Le rapport des deux densités optiques permet de calculer le pourcentage d'Hb A_{1c} .

- Le coffret BIORAD présente des réactifs et microcolonnes prêts à l'emploi.

L'hémolysat est préparé en ajoutant à 100 microlitres de sang total, 500 microlitres de réactif hémolysant ("solution aqueuse d'ether, de polyoxyéthylène à 0,33% volume pour volume"). 100 microlitres d'hémolysat sont ensuite déposés à la surface de la résine et élués par 10 ml de réactif d'élution (" tampon phosphaté pH 6,7, 0,1 mole avec cyanure de potassium et conservateur").

20 microlitres d'hémolysat sont dilués dans 10 ml de réactif d'élu-tion et représentent l'hémoglobine totale. Le rapport des densités optiques lues à 415 nm pour l'hémolysat total et pour l'éluat donne le pourcentage de la frac-tion rapide HbA_{1a+b+c} .

- Les résultats obtenus pour les moyennes ont été comparés en utilisant le test de Welch lorsque les variances étaient inégales (132).

L'étude des corrélations a été faite en calculant le "r" par un test de corrélation simple.

La comparaison des moyennes des taux d' HbA_{1c} calculés chez les DID et DNID a été faite par le test du t de Student, lorsque les variances le permet-taient.

IV - RESULTATS

Les résultats obtenus pour les deux méthodes, exprimés par la moyenne avec une déviation standard pour chaque série de sujets, sont rassemblés dans le tableau IV.

La répartition des différentes valeurs est représentée sur la figure 5.

- La moyenne des variations du taux de l'hémoglobine glycosylée calculée sur trois jours chez 10 sujets témoins est élevée dans les deux méthodes, mais avec une augmentation plus importante pour la technique Biorad (tableau V).

- La comparaison, par le test de Welch, des variations des taux d'hémoglo-bine glycosylée obtenus par les deux méthodes chez les sujets normaux et diabéti-ques insulino-dépendants, fait apparaître des fonctions discriminatives "R", res-pectivement de 2,82 et 2,70.

- La comparaison des taux moyens d'hémoglobine A_{1c} , chez les sujets dia-bétiques insulino-dépendants et non insulino-dépendants, fait apparaître des "t" de 2,37 pour la technique de Trivelli modifiée et de 1,14 pour le coffret Biorad.

- Le coefficient de corrélation calculé pour les deux méthodes est égal respectivement à 0,38 chez les témoins, 0,78 chez les diabétiques non insulino-dépendants, 0,55 chez les diabétiques insulino-dépendants, et enfin de 0,59 lors-que l'on rassemble les deux populations diabétiques.

V - COMMENTAIRES

La comparaison des résultats du dosage de l'hémoglobine glycosylée sur le même échantillon de sang, par ces deux procédés (figure 5. et tableau IV), fait apparaître que les taux mesurés par la technique Biorad sont en moyenne plus élevés que ceux mesurés par la technique de Trivelli. Ces taux sont supérieurs avec le coffret Biorad du fait d'une part de l'addition des pics d' HbA_{1a} et

d'HbA_{1b}, et d'autre part, comme le montre la figure 6, du fait de la faiblesse du coefficient de corrélation ($P = 0,04$) entre les deux méthodes, à la limite de la signification statistique.

La valeur des fonctions discriminantes "R" montre que les taux d'hémoglobine glycosylée des sujets normaux et diabétiques insulino-dépendants, obtenus par la deux méthodes, sont significativement différents, au risque de 5% ; cependant "R" étant plus faible pour la technique Biorad on peut conclure que la méthode de Trivelli est plus discriminante, d'autant que les taux moyens d'hémoglobine A_{1c} des sujets DID sont significativement différents de ceux des sujets DNID avec la technique de Trivelli ($P < 0,05$), alors qu'il ne le sont pas avec les microcolonnes Biorad.

Il n'y a pas de relation entre les taux d'hémoglobine A_{1c} calculés par les deux méthodes dans les populations DID et DNID prises isolément, alors que la corrélation entre ces deux méthodes est significative au risque de 5% lorsque l'on rassemble ces deux populations.

La dispersion des résultats, plus importante avec la technique Biorad (figure 5), apparaît surtout pour les valeurs les plus élevées. Cela explique le chevauchement important des taux mesurés par cette méthode chez les témoins et les diabétiques, surtout dans l'intervalle compris entre 10 et 14%.

Enfin, la comparaison des résultats obtenus par les deux méthodes chez les mêmes sujets témoins, pendant 3 jours consécutifs (tableau V), montre que les fluctuations sont moins importantes avec la technique de Trivelli.

Ainsi, si les difficultés d'utilisation de la technique chromatographique de référence pour le dosage de l'hémoglobine glycosylée contraignent à recourir à des méthodes plus rapides, il ressort de notre étude que malgré une corrélation significative entre ces deux méthodes, les techniques microchromatographiques manquent de précision, ce qui est un écueil à l'interprétation d'un paramètre aussi concis.

Il serait donc dommage dans l'avenir, pour en permettre la vulgarisation, de sacrifier la précision d'un tel dosage. Si les différentes techniques présentées jusqu'aujourd'hui apparaissaient longues, il est indispensable, néanmoins, d'en souligner la qualité.

METHODES	TEMOINS n = 32		D.I.D. n = 11		D.N.I.D. n = 5	
	$\bar{x} \pm d.s.$	cv	$\bar{x} \pm d.s.$	cv	$\bar{x} \pm d.s.$	cv
TRIVELLI	4,75 $\pm$ 0,78 %	16,62 %	8,75 $\pm$ 2,31 %	27,7 %	6,4 $\pm$ 1,57 %	24,5%
BIORAD	8,68 $\pm$ 2,76 %	31,66 %	14,42 $\pm$ 5,44 %	39,6 %	12,2 $\pm$ 2,31 %	18,9%

TABLEAU IV. Taux sanguin d'hémoglobine glycosylée.

D.I.D. = Diabète insulinodépendant.
D.N.I.D. = Diabète non insulinodépendant.
cv = Coefficient de variation($\frac{d.s.}{\bar{x}}$)

SEXE	TRIVELLI	BIORAD
F	$\bar{x} = 5,43$ d.s. = 0,85 cv = 15,65 %	$\bar{x} = 8,67$ d.s. = 0,93 cv = 10,72 %
F	$\bar{x} = 4,90$ d.s. = 0,53 cv = 10,80 %	$\bar{x} = 8,43$ d.s. = 0,85 cv = 10,08 %
F	$\bar{x} = 3,90$ d.s. = 0,46 cv = 11,70 %	$\bar{x} = 8,60$ d.s. = 1,22 cv = 14,15 %
F	$\bar{x} = 7,23$ d.s. = 0,57 cv = 7,86 %	$\bar{x} = 13,63$ d.s. = 3,07 cv = 22,55 %
F	$\bar{x} = 4,57$ d.s. = 0,32 cv = 7,04 %	$\bar{x} = 5,70$ d.s. = 0,80 cv = 14,04 %
F	$\bar{x} = 4,80$ d.s. = 0,44 cv = 9,08 %	$\bar{x} = 5,53$ d.s. = 0,50 cv = 9,10 %
F	$\bar{x} = 4,17$ d.s. = 0,29 cv = 6,93 %	$\bar{x} = 5,67$ d.s. = 0,58 cv = 10,19 %
H	$\bar{x} = 3,83$ d.s. = 0,38 cv = 9,88 %	$\bar{x} = 8,50$ d.s. = 1,48 cv = 17,41 %
H	$\bar{x} = 5,10$ d.s. = 0,61 cv = 11,93 %	$\bar{x} = 11,13$ d.s. = 2,50 cv = 22,48 %
H	$\bar{x} = 4,80$ d.s. = 0,20 cv = 4,17 %	$\bar{x} = 9,97$ d.s. = 0,21 cv = 2,09 %
moyenne des cv.	9,51 %	13,28 %

TABEAU V. Variation moyenne du taux sanguin d'hémoglobine glycosylée sur trois jours consécutifs chez dix sujets témoins.

cv = Coefficient de variation ($\frac{\text{d.s.}}{\bar{x}}$)

L E G E N D E D E S F I G U R E S.

Figure 5. Hémoglobine glycosylée. Dispersion des valeurs individuelles mesurées par deux méthodes de dosage sur les mêmes échantillons de sang (les barres transversales indiquent la moyenne et l'écart type pour chaque groupe).

Figure 6. Comparaison des valeurs individuelles du taux d'hémoglobine glycosylée mesurées sur le même échantillon de sang par deux techniques chez trente-deux sujets témoins.

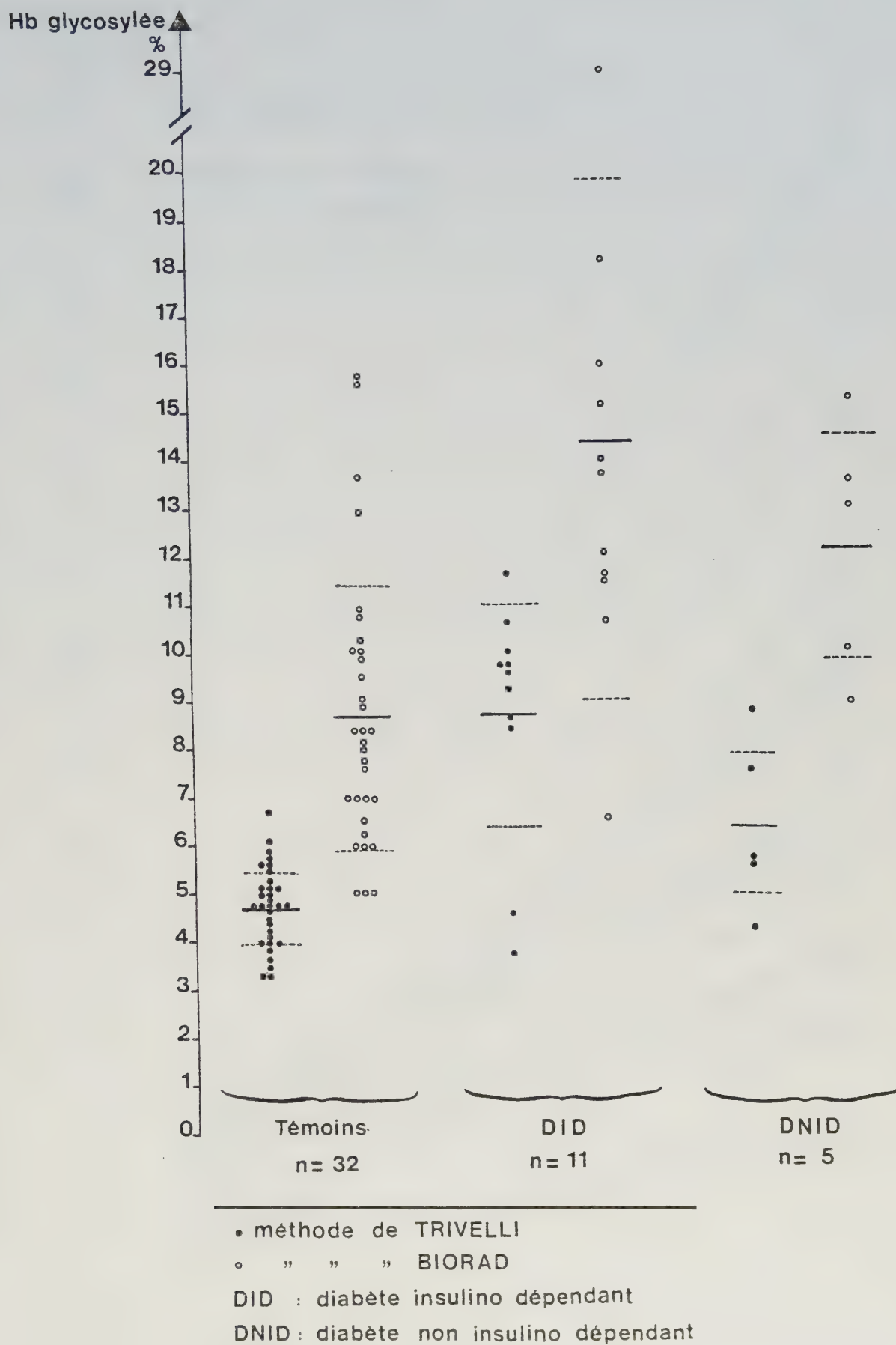


FIGURE 5.

Hb glycosylée %

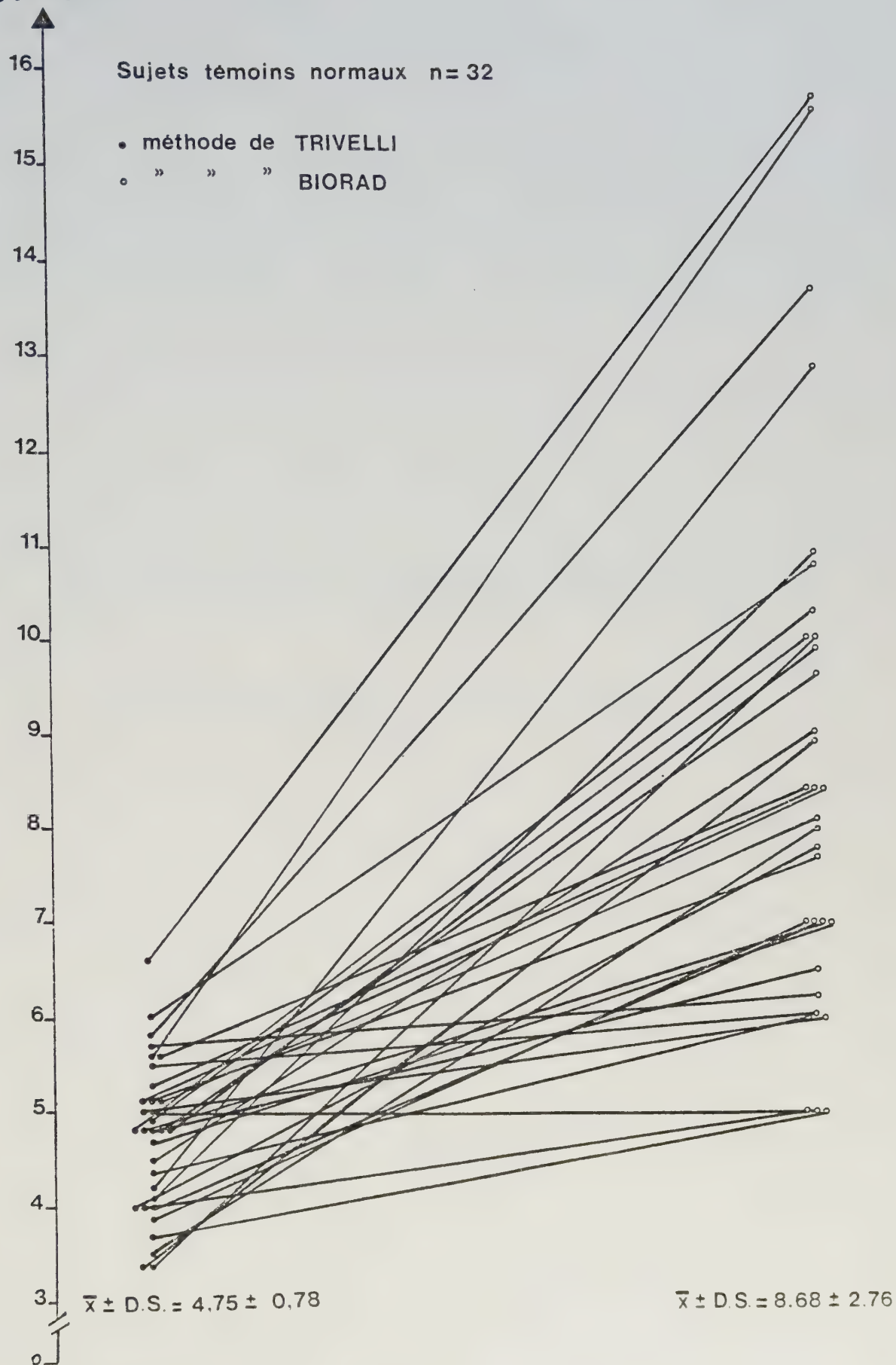


FIGURE 6.

QUELQUES APPLICATIONS PRATIQUES

EN DEHORS DU DIABETE SUCRE .

A - INTRODUCTION AU TRAVAIL.

A partir de cette première étude, utilisant la méthode de Trivelli modifiée, il nous a paru intéressant d'essayer d'apprécier l'interêt de l'hémoglobine glycosylée dans le dépistage des troubles de la glycorégulation, comme l'avaient déjà entrepris d'autres auteurs (16, 17).

Nous avons choisi deux populations classiquement connues pour présenter des troubles du métabolisme des hydrates de carbone :

- La première population est composée de 30 sujets présentant des troubles de la fonction thyroïdienne, 25 hyperthyroïdiens et 5 hypothyroïdiens.
- La deuxième population rassemble 23 obèses.

Nous avons comparé le taux d'HbA_{1c} à deux épreuves fonctionnelles dynamiques traditionnelles : l'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) et l'épreuve à la tolbutamide, toutes deux couplées à l'insulinémie. Ces deux épreuves sont complémentaires, puisqu'elles interrogent des mécanismes différents de la régulation glucidique.

Nous rappellerons la technique de chaque épreuve telle qu'elle est mise en oeuvre à la clinique endocrinologique (Pr. GUINET) et les résultats normaux.

Les données cliniques et les résultats des examens biologiques sont rassemblés :

- Pour les sujets hyperthyroïdiens, dans les tableaux XII, XIII, XIV.
- Pour les sujets hypothyroïdiens, dans le tableau XV.
- Pour les sujets obèses, dans les tableaux XVI, XVII, XVIII.

B - METHODOLOGIE

I - METHODE DE DOSAGE DE LA GLYCEMIE :

Le sang est prélevé par ponction veineuse au pli du coude dans un tube contenant fluorure et oxalate.

On utilise une technique enzymatique à la glucose-oxydase.

Le glucose est oxydé en acide gluconique en présence de glucose-oxydase et d'oxygène avec libération d' H_2O . Sous l'influence d'une peroxydase, ce dernier est décomposé et oxyde un système chromogène incolore à l'état réduit.

II - METHODE DE DOSAGE DE L'INSULINEMIE :

5 ml de sang sont prélevés après ponction veineuse au pli du coude sur tube hépariné.

Le dosage a été effectué au laboratoire de Médecine Nucléaire (Pr BIZOLLON). La technique radioimmunologique utilisée pour séparer les deux fractions met en jeu un deuxième anticorps pré-précipité (technique de Hales et Randle).

Elle est commercialisée sous forme de trousse prête à l'emploi, comportant les réactifs essentiels (CEA).

III - METHODE DE DOSAGE DE L'HbA_{1c} :

Le sang est prélevé sur héparinate de lithium par ponction veineuse au pli du coude, chez le sujet à jeun.

Le procédé utilisé est celui de Trivelli modifié décrit antérieurement.

Il a été effectué au Laboratoire Central de Biochimie de l'Hôpital de l'Antiquaille par Mr. GOUJON R.

IV - EPREUVE D'HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE PAR VOIE ORALE (HGPO) :a - Technique

Le patient est au lit, à jeun depuis la veille, ayant reçu les jours précédents un régime comportant une ration normale d'hydrates de carbone (150 g par jour).

Il reçoit par la bouche, après qu'ait été prélevé le sang de la glycémie et de l'insulinémie basale, 50 g de glucose en solution. La glycémie est ensuite déterminée 30, 60, 90, 120, et 180 minutes après l'ingestion. Chaque prélèvement pour la glycémie est couplé à un prélèvement pour l'insulinémie.

b - Critères d'interprétation de l'HGPO :

§ Critères de Conn et Fajans (41):

La charge comporte l'absorption de 1,75 g de glucose par kilo de poids corporel.

La glycémie ne doit pas excéder 8,8 mmol/l. à 60 minutes, 7,7 mmol/l à 90 minutes, et 6,6 mmol/l à 120 minutes.

Si ces trois critères sont dépassés, l'épreuve est jugée pathologique; si un ou deux de ces critères sont franchis, l'épreuve est jugée "limite".

§ Critères de Wilkerson (134) :

La charge en glucose est ici, en principe, de 100 grammes.

On considère les glycémies à jeun, à 60, 120, 180 minutes.

Si la glycémie à jeun est supérieure à 6,1 mmol/l, on compte 1 point.

"	"	"	"	60 mn	"	"	9,3	"	,	"	"	$\frac{1}{2}$	"	.
---	---	---	---	-------	---	---	-----	---	---	---	---	---------------	---	---

"	"	"	"	120 mn	"	"	6,6	"	,	"	"	$\frac{1}{2}$	"	.
---	---	---	---	--------	---	---	-----	---	---	---	---	---------------	---	---

"	"	"	"	180 mn	"	"	6,1	"	,	"	"	1	"	.
---	---	---	---	--------	---	---	-----	---	---	---	---	---	---	---

Un score de 2 points ou plus est pathologique. Un score de 1 ou $1\frac{1}{2}$ est considéré comme "limite".

§ Critère de la British Diabetic Association :

L'épreuve comporte une charge de 50 grammes de glucose.

Si la glycémie à 30 ou 60 ou 90 minutes est supérieure ou égale à 8,8 mmol/l par litre, et si la glycémie à 120 minutes est supérieure ou égale à 6,1 mmol/l, l'épreuve est jugée pathologique.

§ Critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (98) :

On utilise ici aussi un protocole avec 50 grammes de glucose.

Le test est jugé pathologique si la glycémie à 120 minutes est supérieure ou égale à 7,2 mmol/l.

§ Critères de l'University Group Diabetes Program (UGDP) (122) :

La charge glucosée apporte 30 grammes de glucose par m^2 de surface corporelle.

La somme des glycémies à jeun, à 60, 120, 180 minutes doit être supérieure ou égale à 27,5 mmol/l pour être jugée pathologique.

c - Valeurs normales de l'insulinémie au cours de l'HGPO :

Chez le sujet normal, le niveau de l'insulinémie à jeun est de $10,5 \pm 3,5$ microunités par millilitre.

Au cours d'une épreuve de charge en glucose, les résultats varient suivant les laboratoires, mais on peut admettre que chez le sujet normal, la réponse insulinémique maximale (entre 40 et 75 microunités par millilitre) survient entre 30 et 60 minutes avec un retour progressif au taux basal en 3 heures environ.

Dans le diabète non insulino-dépendant, la réponse insulínique maximale est importante autour de la première heure, prolongée, avec retour au niveau de base plus lentement décroissant.

V - LE TEST AU TOLBUTAMIDE :

a - Technique :

Celle proposée par Unger et Madison en 1958 est généralement adoptée.

Le régime dans les jours qui précèdent est identique à celui proposé avant l'épreuve d'HGPO.

Deux prélèvements glycémiques et insulíniques, de base sont réalisés 5 minutes avant le test.

Le tolbutamide (Dolipol R) est injecté par voie intraveineuse en une minute dès la fin du deuxième prélèvement. La dose injectée est de 1 gramme de tolbutamide sous forme de sel sodique, en solution dans 20 millilitres de solvant.

Les prélèvements pour la glycémie et l'insulínémie se font respectivement et régulièrement : 2, 5, 10, 30, et 60 minutes après l'injection.

Ce test permet d'explorer la quantité d'insuline sécrétée, normale, insuffisante ou excessive, et d'autre part la sensibilité tissulaire vis à vis de celle-ci.

b - Résultats :

Chez le sujet normal, Unger et Madison observent une chute de la glycémie de : - $49 \pm 14,8\%$ de la valeur initiale à la 30^e minute.

- $28 \pm 12,1\%$ de la valeur initiale à la 60^e minute.

Cette valeur de la glycémie à la 60^e minute représente normalement une remontée glycémique déjà bien amorcée, et qui doit être supérieure, et valeur absolue, à 10% de la valeur glycémique initiale.

Les valeurs maximales de l'insulínémie s'observent entre 2 et 5 minutes après l'injection, et se situent entre 20 et 100 microunités par millilitre.

VI - METHODES DE DOSAGE DU CHOLESTEROL ET DES TRIGLYCERIDES :

Le sang est prélevé par ponction veineuse au pli du coude sur tube sec. On utilise une technique enzymatique sur SMA 6/60.

VII - LE BILAN THYROIDIEN :

Il comporte le dosage de la thyroxine (T4) et de la triiodothyronine (T3) radioimmunologique avec détermination de l'indice de thyroxine libre (ITL).

La technique de dosage radioimmunologique de la T3 et de la T4 se présente sous forme de trousse prête à l'emploi des laboratoire Amersham. Le T3 test est effectué lui aussi à partir de réactifs prêts à l'emploi présentés par les laboratoires Travenol.

Ces différentes déterminations ont été effectuées au Laboratoire de l'Hôpital de l'Antiquaille (Dr. Fleury).

Le dosage radioimmunologique de l'hormone thyroïdienne hypophysaire (TSH) a été effectué au Laboratoire de l'hôpital de l'Antiquaille (Dr. Fleury).

C - TROUBLES DE LA FONCTION THYROÏDIENNE ET HbA_{1c}.

I - DIABETE ET HYPERTHYROÏDIE (91, 96, 97).

a - Altérations de la glycorégulation dans l'hyperthyroïdie.

Leur existence est confirmée depuis longtemps par des faits cliniques et expérimentaux.

§ La glycosurie est fréquente en dehors même de tout diabète patent, et c'est à Dumontpallier, en 1867, que l'on doit la première observation : "Goitre exophtalmique et glycosurie chez le même malade". Elle est surtout de type postprandiale et transitoire.

§ La fréquence du diabète sucré, relativement notable au cours de l'hyperthyroïdie dans les anciennes statistiques, est aujourd'hui moins importante (2%) bien que de temps à autre, on découvre cette affection dans le cours évolutif d'une hyperthyroïdie.

§ L'hérédité semble jouer un rôle du fait de la plus grande fréquence des antécédents de diabète chez les hyperthyroïdiens. La thyrotoxicose ne serait que le simple fait révélateur d'un déséquilibre glucidique latent.

§ La glycémie de base est le plus souvent normale.

§ L'action des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme glucidique joue à plusieurs niveaux :

- Augmentation de l'absorption intestinale du glucose ;
- Action réductrice sur le glycogène hépatique ;
- Au niveau du glycogène musculaire en favorisant la néoglycogénèse protidique.
- Probablement, elles favorisent l'utilisation périphérique du glucose ;
- action certainement très importante par le biais des catécholamines.

§ Les anomalies du métabolisme glucidique peuvent être mises en évidence au cours de l'hyperthyroïdie.

Fréquemment on observe un aspect pathologique de la courbe d'hyperglycémie provoquée par voie orale :

- Environ 57% des hyperthyroïdiens ont une courbe d'HGPO anormale dont la moitié revient à la normale après guérison.

- Plusieurs types de courbes d'HGPO couplées à l'insulinémie peuvent être observées (97) : le taux d'insulinémie de base est normal, puis on observe, soit une ascension glycémique intense et rapide associée à une élévation de l'insulinémie, avec retour glycémique et insulinémique à la normale parfois prolongé (d'allure diabétique) entre 2 et 3 heures, soit une ascension glycémique subnormale et pic insulinémique précoce, soit un tracé normal.

- Le test au tolbutamide est en général normal avec même une exagération de la réponse chez les hyperthyroïdiens dont les troubles glucidiques sont récents (pour Guinet, Tourniaire et Levrat).

b - L'Hyperthyroïdie chez le diabétique :

La fréquence de l'hyperthyroïdie semble plus importante chez le diabétique que dans une population témoin. Dans une étude extensive Mirouze trouve 1,1% d'hyperthyroïdies et 1,9% d'hypothyroïdies ; en fait Pirart évalue la fréquence à 0,05% et 0,4% respectivement pour les 2 thyroïdopathies dans la population diabétique.

- La fréquence des lésions autoimmunitaires dans le diabète sucré a été décrite mais plus intéressante semble la connaissance actuelle du processus physiopathologique relevant du mécanisme général de l'autoimmunité, dans certains diabètes sucrés et dans la maladie de Basedow. La découverte récente d'anomalies du système HLA chez certains diabétiques et les Basedowiens paraît en faveur d'un terrain propice à l'éclosion de maladies autoimmunes (97).

- Le retentissement du diabète sucré ou de son traitement sur l'hyperthyroïdie est minime. En fait, le traitement de l'hyperthyroïdie semble susceptible d'améliorer les anomalies glucidiques. Jamais la disparition complète du diabète sucré découvert antérieurement à l'apparition de la thyrotoxicose n'a été constatée, alors que les troubles minimes de la glycorégulation disparaissent.

- Plus récemment Kabadi (70) a décrit un taux de base de glucagon élevé chez certains hyperthyroïdiens, semblant souligner le rôle non négligeable de cette hormone dans l'intolérance glucidique au cours de l'hyperthyroïdie.

II - DIABETE ET HYPOTHYROIDIE (91)

Dans 66% des cas, le diabète est antérieur au trouble de la fonction thyroïdienne. Il faut rappeler qu'une diminution des besoins en insuline marque fréquemment le début du déficit thyroïdien, mais que dès que le traitement de l'hypothyroïdie est mis en place, il faut relever cette insulinothérapie.

Plusieurs mécanismes physiopathologiques ont été invoqués :

- Les sulfamides hypoglycémisants ont été incriminés ; en fait l'hypothyroïdie est aussi fréquente quand le sujet est traité à l'insuline.

- La microangiopathie peut toucher la thyroïde, et de ce fait provoquer une sclérose atrophique de la glande. Il est à noter que ce même processus peut toucher l'hypophyse antérieure.

- En fait, il faut porter une attention particulière au rôle de l'autoimmunité : 21% des diabétiques, après 5 ou 8 ans d'évolution, ont des anticorps

antithyroïdiens. Or, du fait de la fréquence des anticorps antithyroïdiens (ACAT) chez les sujets présentant des thyroïdites, ou myxoedèmes involutifs, il est vraisemblable que certaines hypothyroïdies soient secondaires à des thyroïdites.

- Enfin, il faut rappeler que pour Cassano, 46% des myxoedémateux ont des antécédents familiaux de diabète.

III - SUJETS ETUDIÉS.

30 malades issus de la clinique endocrinologique furent étudiés. Il s'agissait de : - 25 hyperthyroïdiens.

- 5 hypothyroïdiens.

a - Les sujets hyperthyroïdiens :

Ils se divisaient en 23 femmes et 2 hommes, âgés de 22 à 68 ans avec une moyenne d'âge de 48 ans.

On peut classer ces 25 hyperthyroïdies en 17 maladies de Basedow (16 femmes et 1 homme), 3 adénomes toxiques (2 femmes et 1 homme), 2 goîtres hétéromultinodulaire toxique, et 3 goîtres secondairement Basedowifiés. La durée d'évolution de la maladie s'échelonnait de 3 mois à 2 ans.

5 femmes et 1 homme avaient des antécédents familiaux de diabète, soit 24% de la population étudiée. 6 sujets avaient des antécédents thyroïdiens. 1 femme avait eu un enfant dont le poids de naissance était supérieur à 4 Kgs, sans autre antécédent familial.

2 sujets féminins étaient sous oestroprogestatifs minidosés.

2 sujets étaient en traitement par les bêta-bloquants. En tout, 11 sujets avaient une prise médicamenteuse quotidienne. On notera pour mémoire qu'une personne parmi ces 11 avait reçu plusieurs produits pharmaceutiques dans les semaines précédant le dosage.

Parmi ces 25 sujets :

- 21 ont eu un dosage, le même jour de l'HbA_{1c}, du cholestérol, des triglycérides, un bilan thyroïdien et une hyperglycémie provoquée par voie orale couplée au dosage de l'insulinémie. Les jours suivants, ils ont subi un test au tolbutamide couplé à l'insulinémie.

- 4 n'ont pu recevoir le test au tolbutamide.

b - Les sujets hypothyroïdiens :

4 femmes et 1 homme, âgés de 29 à 61 ans, avec une moyenne d'âge de 48 ans ont été étudiés.

- Etiologie :

On recensait une femme avec une hypothyroïdie périphérique après thyroïdectomie subtotale pour maladie de Basedow ; une hypothyroïdie centrale survenue chez une femme après cobaltothérapie et hypophysectomie pour adénome à prolactine ; deux hypothyroïdes primitives, chez un homme et une femme, avec anticorps anti-thyroïdiens négatifs ; enfin une hypothyroïdie centrale d'origine hypothalamique. 1 femme était sous traitement oestroprogestatif et bêta-bloquant.

Ces 5 sujets ont subi le même jour un dosage de l'HbA_{1c}, des triglycérides, du cholestérol, de la TSH, des hormones thyroïdiennes périphériques, et une HGPO avec dosage de l'insulinémie.

IV - RESULTATS

Les résultats obtenus pour la population présentant des troubles de la fonction thyroïdienne sont regroupés dans la figure 7.

a - Résultats dans l'hyperthyroïdie :

Le taux moyen d'HbA_{1c} pour les 25 sujets étudiés, exprimé par la moyenne avec une déviation standard est égal à : $5 \pm 0,8\%$ avec un coefficient de variation de 15,8%.

9 sujets (8 femmes et 1 homme) ont un taux d'HbA_{1c} supérieur à la moyenne avec une déviation standard (d.s.), soit 36% de la population étudiée.

1 sujet masculin parmi ces 9 malades a un taux supérieur de 2 d.s. à la moyenne de la population.

1 femme a un taux d'HbA_{1c} inférieur de 2 déviations standard à la moyenne.

La comparaison des taux moyens d'hémoglobine glycosylée obtenus chez les témoins et les malades hyperthyroïdiens, fait apparaître une valeur "t" égale à 1,2 (ns). Il n'existe donc aucune différence significative entre les taux moyens des témoins et des hyperthyroïdiens, comparés par le test de Student.

Il n'existe aucune relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie de base ($r = 0,16$), de même qu'entre le taux d'HbA_{1c} et les glycémies, respectivement à : la 30^è minute ($r = 0,33$), la 60^è minute ($r = 0,38$), la 180^è minute ($r = 0,20$) au cours de l'HGPO.

La corrélation entre le taux d'HbA_{1c} et le pic hyperglycémique au cours de l'épreuve de charge en glucose, est à la limite de la signification statistique ($r = 0,392$, p compris entre 0,05 et 0,06) (figure 10.).

Par contre, on trouve une corrélation ($P < 0,05$) entre les taux

d'HbA_{1c} et les glycémies à la 90^è minute ($r = 0,42$), et à la 120^è minute ($r = 0,40$) au cours de l'HGPO (figure 8 et 9).

La corrélation la plus forte est obtenue entre le taux d'HbA_{1c} et la somme des glycémies au cours du test de tolérance glucosée ($r = 0,49$, $p = 0,01$).

Il n'y a pas de relation entre le taux d'HbA_{1c} évalué par la méthode de Trivelli modifiée et :

- Le niveau de la cholestérolémie ($r = 0,008$).
- Le taux de triglycérides ($r = 0,286$).
- L'insulinémie basale ($r = 0,11$).
- La flèche insulinémique sous stimulation glucosée orale ($r = 0,25$).

Le taux d'hémoglobine glycosylée, évalué chez les deux sujets sous traitement oestroprogestatif, est identique au taux moyen de la population témoin.

Il n'y a pas de relation entre le taux d'HbA_{1c} et la durée d'évolution de la maladie.

La glycémie au cours du test au tolbutamide évolue de façon normale chez les 25 sujets étudiés.

Chez 13 sujets féminins, la réponse insulinique au cours de ce test était exagérée, de type diabétique. Parmi ces 13 sujets, 5 avaient un taux d'HbA_{1c} supérieur à la moyenne plus une déviation standard, et 8 une HGPO pathologique. Cependant, 4 sujets ayant des taux d'HbA_{1c} pathologiques ont des réponses insuliniques normales au cours du test à la tolbutamide.

En confondant les critères d'interprétation, 13 femmes et 1 homme ont une HGPO pathologique, sur les 25 sujets étudiés (56% de la population).

Toutes les personnes qui ont un taux d'HbA_{1c} pathologique ont une épreuve d'HGPO perturbée.

Chez 5 sujets, le taux d'HbA_{1c} fut dosé après guérison de la thyrotoxicose: chez 2 sujets de moins de 60 ans, le taux d'HbA_{1c} qui était supérieur à la moyenne plus une déviation standard chuta pour rentrer dans les limites de la normale.

b - Résultats dans l'hypothyroïdie :

Le taux moyen d'HbA_{1c} pour les 5 sujets étudiés, exprimé par la moyenne avec une déviation standard, est égal à $4,2 \pm 0,6\%$, avec un coefficient de variation de 14,2%.

Tous les sujets étudiés ont un taux d'hémoglobine A_{1c} normal.

La comparaison, par le test de Student, des taux moyens d'HbA_{1c} évalués chez les témoins et les malades hypothyroïdiens, fait apparaître une valeur de "t" égale à 1,82. Il n'y a donc pas de différence significative entre les taux d'HbA_{1c}

des sujets hypothyroïdiens et témoins.

Par contre, la comparaison par le même test, des taux moyens calculés chez les hyperthyroïdiens et les hypothyroïdiens, fait apparaître une valeur de "t" égale à 2,56, montrant qu'il existe une différence significative ($p < 0,02$) entre les taux d'HbA_{1c} de ces deux populations.

Il n'y a aucune relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie basale ($r = 0,64$), de même qu'entre le taux d'hémoglobine glycosylée et les glycémies respectivement à : 60^e minute ($r = 0,257$), la 90^e minute ($r = 0,302$), la 120^e minute ($r = 0,38$), la flèche glycémique ($r = 0,07$), au cours de l'HGPO.

Toutes les HGPO étaient normales.

V - COMMENTAIRES :

a - Dans l'hyperthyroïdie :

L'hyperglycémie provoquée par voie orale, est fréquemment (56% des cas dans notre étude) mais discrètement perturbée. On sait donc qu'on ne peut attribuer aucune valeur à cette épreuve dans la quête d'un pré-diabète, au cours d'une poussée thyrotoxique, et que ce n'est qu'après guérison de la thyroïdopathie que la persistance d'une réponse pathologique attirera l'attention.

Le taux d'hémoglobine A_{1c}, par contre, est normal au cours de l'hyperthyroïdie, dans la population étudiée.

Chez une personne présentant un taux d'HbA_{1c} supérieur à la moyenne plus deux déviations standard, la glycémie à jeun était pathologique (notée à une reprise). Sa réponse glycémique à l'HGPO était semblable à celle des sujets dont l'épreuve était perturbée.

Le dosage de l'hémoglobine A_{1c} paraît donc être un critère précieux pour déceler un diabète coexistant à une hyperthyroïdie.

Cependant, comme le signalent d'autres auteurs, il est important de noter l'interaction médicamenteuse qui peut fausser le dosage de l'hémoglobine A_{1c}. Dans notre population, le sujet qui présentait un taux d'HbA_{1c} de deux déviations standard inférieur à la moyenne, avait eu une prise médicamenteuse multiple durant les 45 jours précédant le dosage. Il ne nous a pas été possible d'attribuer la responsabilité à un médicament particulier, mais Kesson (72) attire l'attention sur l'association d'anémies hémolytiques et l'absorption de sulfones et sulfamides.

Comme d'autres auteurs (34) l'avaient noté chez le sujet normal, nous n'avons pas trouvé de relation entre glycémie à jeun et hémoglobine A_{1c}.

Il en est de même pour les relations entre cholestérolémie,

insulinémie au cours de l'HGPO et le taux d'hémoglobine A_{1c}.

Comme l'avait montré Graf chez le sujet normal, le taux d'HbA_{1c} chez l'hyperthyroïdien s'élève avec l'âge, (cf tableau VI et VII). En effet, si le taux d'HbA_{1c} apparaît stable pour les tranches de 20 à 50 ans (4,7%), il s'élève de façon significative (5,6% = moyenne + une déviation standard) pour la tranche d'âge de 60 à 70 ans ; 85% des gens de cette tranche d'âge ont un taux d'HbA_{1c} supérieur à la normale (moyenne + une déviation standard), mais inférieur à la moyenne + deux déviations standard. Il est intéressant de noter que pour cette même tranche d'âge, l'HGPO reste pathologique, même après réajustement des critères d'interprétation en fonction de l'âge.

Suivant les critères d'interprétation, de 33 à 55% des sujets hyperthyroïdiens qui présentaient une HGPO pathologique, avaient des taux d'HbA_{1c} normaux. Le meilleur agrément fut trouvé entre le taux d'HbA_{1c} et les critères d'interprétation de l'OMS et de l'UGDP (cf. tableau VIII).

		CRITERES D'INTERPRETATION DE L'HGPO.						
		FAJANS & CONN		WILKERSON		OMS	UGDP	BDA
			LIMITE		LIMITE			
Nombre de sujets hyperthyroïdiens ayant une HGPO anormale		6	16	4	14	9	9	11
Ensemble de sujets ayant une HGPO anormale et un taux d'HbA _{1c} inférieur à la m + 1 d.s. en	NOMBRE	2	8	2	7	3	3	6
		33 %	50 %	50 %	50 %	33 %	33 %	55 %
Cas avec concordance des résultats de l'HGPO et du taux d'HbA _{1c} en nombre et pourcentage du total des sujets hyperthyroïdiens		18	16	15	16	19	19	15
	NOMBRE	71 %	64 %	60 %	64 %	76 %	76 %	60 %

TABEAU VIII. Recherche de l'agrément entre taux d'HbA_{1c} et HGPO chez les sujets hyperthyroïdiens.

TRANCHES D'ÂGE PAR 10 ANS	NOMBRE DE SUJETS	TAUX MOYEN D' HbA _{1c}	SUJETS AVEC TAUX D Hb A _{1c} SUP. A $\bar{M}+1D.S.$ EN		SUJETS AVEC HGPO PATHOLOGIQUES EN	
			NOMBRE	POURCENTAGE	NOMBRE	POURCENTAGE
20 - 30	3	4 , 7	0	0	1	33%
30 - 40	2	4 , 75	0	0	0	0
40 - 50	8	4 , 72	2	25 %	4	50 %.
50 - 60	6	4 , 98	2	33 %	3	50 %.
60 - 70	6	5 , 61	5	85 %	5	85 %.

TABLEAU VI. Evolution du taux d'HbA_{1c} et de l'HGPO en fonction de l'âge chez 25 hyperthyroïdiens.

GROUPES	NOMBRE DE SUJETS+SEXE	AGE MOYEN	TAUX D'HbA _{1c} MOYEN	GLYCEMIE A JEUN MOYENNE
1	7 ♀	62 ANS	5,45 %	5,43 MMOL/L
2	11 { 10 ♀ 10 ♂	59 ANS	5,52 "	5,41 "
3	14 { 13 ♀ 10 ♂	42 ANS	4,6 "	5 "

TABLEAU VII. Groupe 1 : Sujets avec HGPO pathologique selon les critères de l'UGDP de l'OMS, et de Fajans et Conn

Groupe 2 : Sujets avec HGPO pathologique selon deux de ces critères

Groupe 3 : sujets avec HGPO normale.

b - Dans l'hypothyroïdie :

Le nombre limité de sujets dans l'échantillon n'a pas permis une exploitation statistique satisfaisante, notamment dans l'étude des corrélations.

Il est tout de même important de noter que la comparaison des moyennes des taux d'hémoglobine A_{1c} , chez les hyperthyroïdiens et les hypothyroïdiens, montre que le taux d' HbA_{1c} de ces derniers est significativement plus bas que celui des hyperthyroïdiens.

On note que la meilleure relation est obtenue entre le taux d' HbA_{1c} et la glycémie à jeun, sans toutefois qu'elle soit significative.

C - OBESITE ET HBA_{1c}I - DIABETE ET OBESITE (123) :

Le rôle de l'obésité dans le diabète de la maturité semble évident :

- 80% des diabétiques ont été obèses.
- 1 obèse sur 6 devient diabétique.

La fréquence exacte du diabète chez les obèses dépend en fait du recrutement et varie entre 28 et 58% suivant les statistiques.

L'obésité est caractérisée par un excès de tissu adipeux. Faute de pouvoir mesurer commodément la masse grasse, on se réfère au poids "idéal" calculé par exemple avec la formule de Lorentz :

$$\text{Poids idéal (en Kgs)} = \text{taille (cms)} - 100 - \frac{\text{taille (cms)} - 150}{4}$$

Cette relation ne tient compte ni de l'âge, ni du sexe, ni de la musculature.

L'obésité se définit comme un poids supérieur de 10% au poids idéal théorique calculé par cette formule. On individualise deux grandes formes cliniques :

- L'obésité androïde, plus fréquente chez l'homme, avec une note de virilisme chez la femme.
- L'obésité gynoïde, surtout féminine.

Plusieurs faits rendent incontestable le rôle de l'obésité dans le diabète :

- Amélioration de la glycorégulation lorsque le poids est ramené à la normale, pouvant aller jusqu'à la guérison apparente ; réapparition des troubles en cas de reprise pondérale.
- Diminution considérable des nouveaux cas de diabètes non insulino-dépendants lors des restrictions alimentaires imposées par les guerres.
- Augmentation du nombre des cas dans les ethnies où ce taux est faible, lorsqu'elles accèdent à une alimentation des pays riches.

Caractères de l'obésité diabétogène :

- L'effet de la surcharge adipeuse sur le développement ou l'extériorisation du diabète n'est pas lié au degré de l'obésité, sauf pour les grandes obésités (poids supérieur de 60% au poids idéal).
- Le diabète est d'autant plus fréquent que la graisse prédomine à la

partie supérieure du corps, donc surtout chez l'obèse androïde.

Les troubles de la tolérance aux hydrates de carbone au cours de la surcharge pondérale ont été recherchés in vivo et in vitro de nombreuses fois ; Ils montrent :

Une élévation du taux de l'insulinémie à l'état basal, mieux encore extériorisable au cours d'une charge orale en glucose. Dans la plupart des cas, cette hyperinsulinisme est la conséquence de la pléthore et non sa cause, et il est aussi noté lors d'autres épreuves, notamment au cours du test à la tolbutamide.

Tout plaide en faveur d'un hyperinsulinisme réactionnel à une diminution de la sensibilité périphérique à l'insuline. D'autre part, il existe une excellente corrélation entre le degré de surcharge pondérale, l'intensité de l'hyperinsulinémie et l'abaissement de la sensibilité périphérique au glucose, le tout induit par l'excès calorique. Les mécanismes qui diminuent la sensibilité périphérique à l'insuline chez l'obèse sont assez hypothétiques (en particulier, rôle de certaines hormones antagonistes : cortisol, hormone de croissance ou glucagon). En fait, l'élément causal pourrait être la diminution au cours de l'obésité des sites récepteurs de l'insuline.

II - SUJETS ETUDIES :

Les 23 sujets étudiés se composaient de 19 femmes et 4 hommes, âgés de 21 à 72 ans avec une moyenne d'âge de 43 ans.

9 sujets, dont 4 hommes, présentaient une obésité de type androïde, 12 femmes une obésité de type mixte et 2 femmes une obésité de type gynoïde.

8 sujets, dont 1 homme, avaient des antécédents de diabète familial, 6 des antécédents familiaux de surcharge pondérale. Sur les 8 sujets qui avaient des antécédents de diabète, 1 femme avait mis au monde 2 enfants dont le poids de naissance était supérieur à 4 Kgs.

1 femme signalait une prise pondérale de 30 Kgs durant son unique grossesse.

2 sujets avaient une prise médicamenteuse quotidienne. 1 femme était sous traitement oestroprogestatif et deux autres sous traitement bêta-bloquant.

Tous ces 23 sujets avaient un excès pondéral d'au moins 10% par rapport à leur poids idéal calculé selon la formule de Lorentz.

- 1 homme et 1 femme avaient une surcharge pondérale de 10% par rapport à leur poids idéal.

- 4 femmes et 2 hommes avaient une obésité moyenne avec un excès de poids de 30 à 50%.

- Enfin, 15 sujets dont 1 homme présentaient une obésité sévère avec un excès pondéral de plus de la moitié de leur poids idéal.

- Chez 12 de ces sujets dont 2 hommes, l'obésité évoluait depuis l'âge de 20 ans.

- 18 de ces sujets avaient eu un excès pondéral maximum, supérieur à 50% au poids idéal.

Parmi ces 23 malades :

- 19 ont eu simultanément un dosage de l'HbA_{1c}, du cholestérol et des triglycérides, et ont subi une HGPO avec dosage de l'insulinémie, et les jours suivants un test au tolbutamide couplé à l'insulinémie.

- 4 malades n'ont pu subir le test au tolbutamide.

III - RESULTATS :

Les résultats obtenus pour cette population sont regroupés dans la figure 7.

Le taux moyen d'HbA_{1c}, pour les 23 sujets étudiés, exprimé par la moyenne avec une déviation standard, est égal à $4,76 \pm 0,76\%$, avec un coefficient de variation de 16%. 6 sujets (4 femmes et 2 hommes), ont un taux d'HbA_{1c} supérieur à la moyenne plus une déviation standard, soit 26% de la population étudiée.

La comparaison des taux moyens d'hémoglobine glycosylée, calculés chez les témoins et les obèses, fait apparaître une valeur de "t" égale à 0,05 (n.s.). Il n'y a donc aucune différence entre les taux d'HbA_{1c} comparés par le test de Student, dans ces deux populations.

Il n'existe aucune relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie basale ($r = 0,26$), de même qu'entre le taux d'HbA_{1c} et les glycémies, respectivement à :

- 30 minutes ($r = 0,09$)
- 60 minutes ($r = 0,38$, p compris entre 0,05 et 0,1)
- 90 minutes ($r = 0,30$)
- 120 minutes ($r = 0,31$)
- 180 minutes ($r = 0,29$)

au cours de l'HGPO.

Il existe une relation à la limite de la signification statistique ($r = 0,42$, $p = 0,05$) entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie maximale au cours de l'HGPO. (figure 11.).

Il n'y a pas de relation entre le taux d'HbA_{1c} et :

- Le niveau de la cholestérolémie ($r = 0,08$)
- Le taux de triglycérides plasmatiques ($r = 0,3$)
- L'insulinémie basale ($r = -0,17$)

- La flèche insulinémique sous stimulation glucosée orale ($r = 0,09$).

Le taux d'HbA_{1c} du sujet sous traitement oestroprogestatif est, là aussi, identique au taux moyen de la population.

Chez 5 des 23 sujets étudiés, l'évolution glycémique au cours du test au tolbutamide est pathologique. 2 de ces sujets ont une HGPO normale, et 3 ont un taux d'HbA_{1c} normal.

En confondant les critères d'interprétation, 9 femmes et 2 hommes ont une HGPO pathologique (48% de la population).

1 personne, dont le taux d'HbA_{1c} est supérieur à la moyenne plus une déviation standard, a une HGPO strictement normale.

IV - COMMENTAIRES :

Dans cette étude, 48% des sujets avaient une HGPO pathologique, alors que seulement 22% avaient un test au tolbutamide perturbé.

Suivant les critères d'interprétation, de 33 à 75% des sujets, dont l'HGPO était pathologique, furent jugés normaux par leur taux d'HbA_{1c}.

Le meilleur agrément est obtenu entre les critères d'interprétation de l'OMS, de Wilkerson, et le taux d'HbA_{1c} (Tableau IX).

		CRITERES D'INTERPRETATION DE L' HGPO						
		FAJANS & CONN		WILKERSON		OMS	UGDP	BDA
		PATHOLOGIQUE	LIMITE	PATHOLOGIQUE	LIMITE			
Nombre de sujets obèses ayant une HGPO anormale		8	16	3	8	9	7	8
Ensemble de sujets ayant une HGPO anormale et un taux d'Hb A1c inférieur à la $\bar{m} + Id.s.$ en	NOMBRE	4	12	1	3	5	5	4
	POURCENTAGE	50 %	75 %	33 %	37 %	56 %	71 %	50 %
Cas avec concordance des résultats de l'HGPO et du taux d'Hb A1c en nombre et pourcentage du total des sujets obèses	NOMBRE	17	9	18	17	14	18	17
	POURCENTAGE	74 %	40 %	78 %	73 %	61 %	78 %	74 %

TABEAU IX. Etude de l'agrément entre taux d'HbA_{1c} et HGPO chez l'obèse.

Tranches d'âge par 10 ans	Nombre de sujet	Taux moyen d' Hb A1c	Sujets avec Taux d'HbA _{1c} supérieur à M+1DS en		Sujets avec HGPO pathologiques en	
			NOMBRE	POURCENTAGE	NOMBRE	POURCENTAGE
20 - 30	2 ♀	5,0 %	I	50 %	I	50 %
30 - 40	9 { ^{6 ♀} 3 ♂	4,50 %	I	II	3	33 %
40 - 50	6 ♀	4,75 %	I	17 %	3	50 %
50 - 60	3 ♀	4,80 %	I	33 %	I	33 %
60 - 70	3 { ^{2 ♀} 1 ♂	5,40 %	2	67 %	2	67 %

TABLEAU X. Evolution du taux d'HbA_{1c} et de l'HGPO avec l'âge chez l'obèse.

GROUPES	NOMBRE DE SUJETS-SEXE	age moyen	TAUX MOYEN D'HbA _{1c}	GLYCEMIE A JEUN MOYENNE
I	6 { ^{5 ♀} 1 ♂	47 ans	5,2 %	5,8 mmol
2	9 { ^{8 ♀} 1 ♂	46,5 ans	4,8 "	5,6 "
3	14 { ^{11 ♀} 3 ♂	40 ans	4,7 "	5,2 "

TABLEAU XI. Groupe 1 : Sujets avec HGPO pathologique selon les critères de l'UGDP de l'OMS, et de Fajans et Conn.

Groupe 2 : Sujets avec HGPO pathologique selon deux de ces critères

Groupe 3 : Sujets avec HGPO normale.

Dans cette population et comme chez le sujet normal, le taux d'HbA_{1c} s'élève avec l'âge, de façon significative là aussi pour la tranche de 60 à 70ans;

66,6% des sujets de cette tranche d'âge ont un taux d'HbA_{1c} supérieur à la moyenne + une déviation standard (tableaux X et XI).

66,6% des sujets de 60 à 70 ans ont une HGPO pathologique, compte tenu des correctifs liés à l'âge.

L'HbA_{1c} traduit donc fidèlement l'altération du métabolisme des hydrates de carbone avec l'âge, et reste un critère valable pour déceler un diabète ; à ce titre, elle apparaît comme un complément utile à l'HGPO.

On signale également dans cette étude, l'interaction médicamenteuse avec le dosage de l'HbA_{1c}, puisque chez les deux sujets dont le taux d'hémoglobine glycosylée était abaissé (inférieur à la moyenne + une déviation standard), on retrouvait la prise d'antalgie.

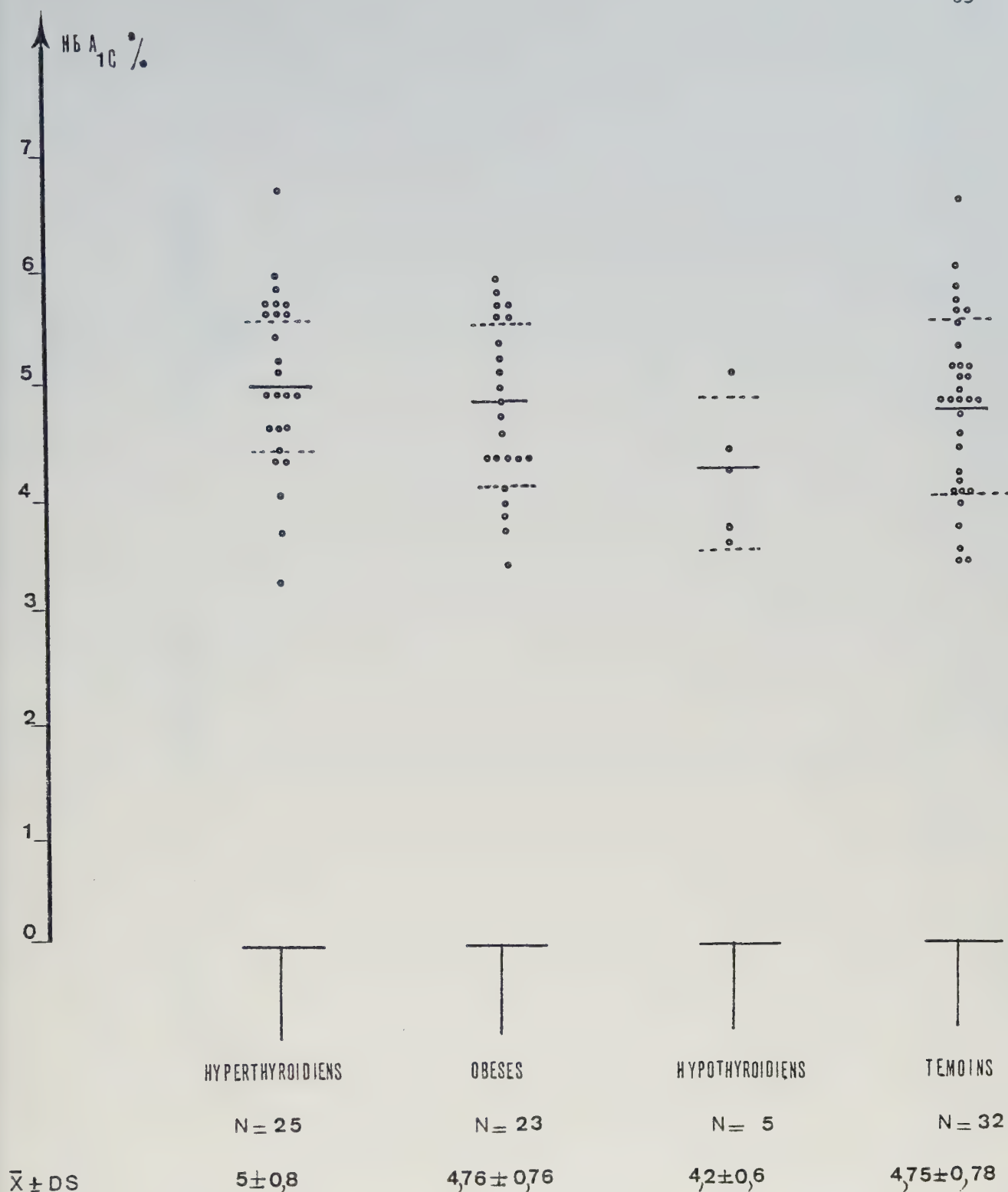


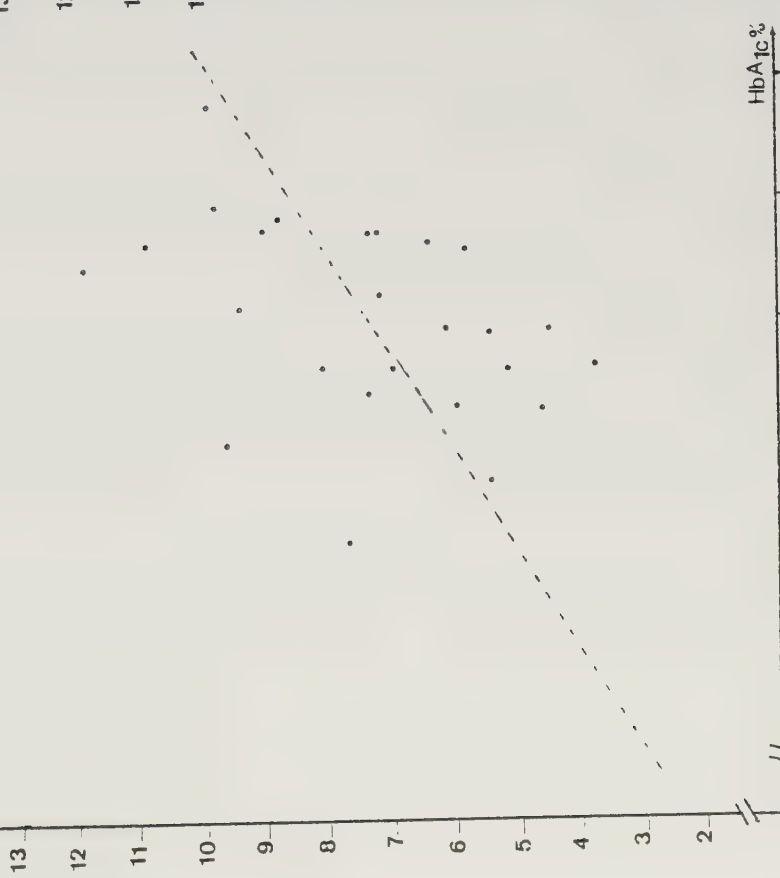
FIGURE 7.

Dispersion des valeurs individuelles mesurées par la technique de TRIVELLI modifiée chez les hyperthyroïdiens, les hypothyroïdiens, les obèses et les témoins. Les barres transversales indiquent la moyenne ($\bar{x}$) et l'écart type (d.s.) pour chaque groupe.

FIGURE 8.

glycémie (mmol/l) à 90 mn
au cours d'HGPO

n = 25 HYPERTHYROÏDIENS
 $y = 1,1x + 2$
 $r = 0,415$
 $p < 0,05$

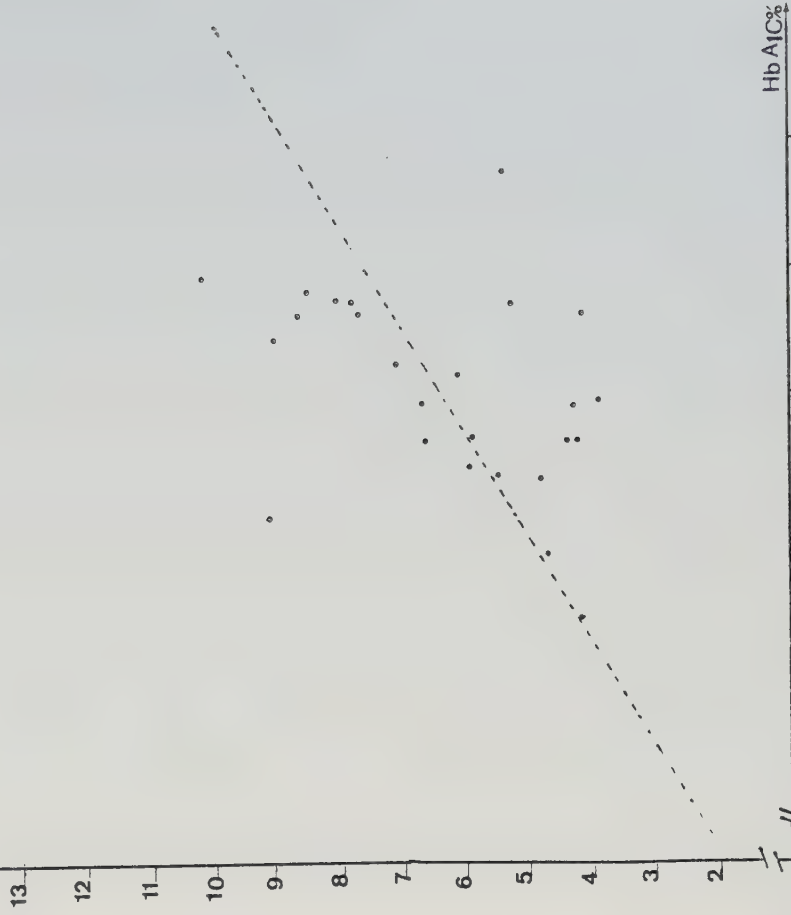


Relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie à 90 mn
au cours de l'HGPO chez l'hyperthyroïdien.

FIGURE 9.

glycémie (mmol/l) à 120 mn
au cours d'HGPO

n = 25 HYPERTHYROÏDIENS
 $y = 0,9x + 1,9$
 $r = 0,401$
 $p < 0,05$

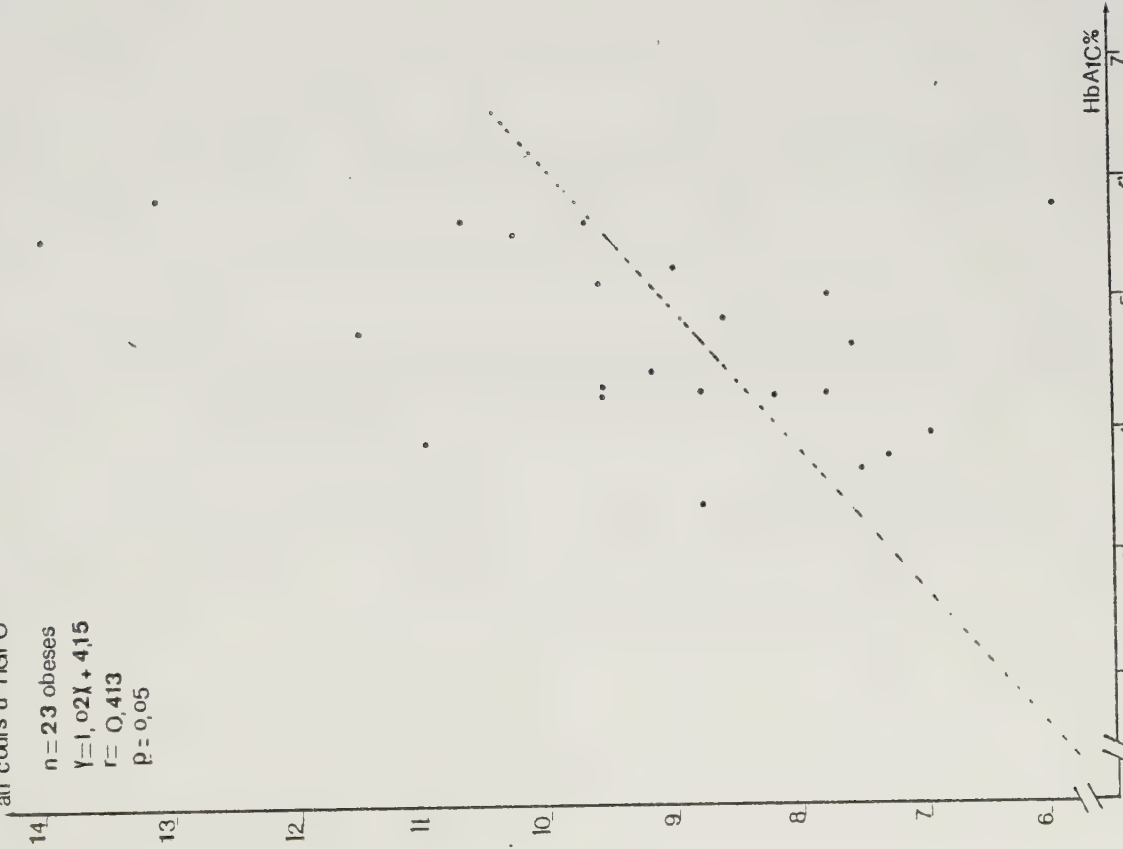


Relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie à 120 mn
au cours de l'HGPO chez l'hyperthyroïdien.

FIGURE 10.

glycémie (mmol/l) maximale
au cours d'HCPO

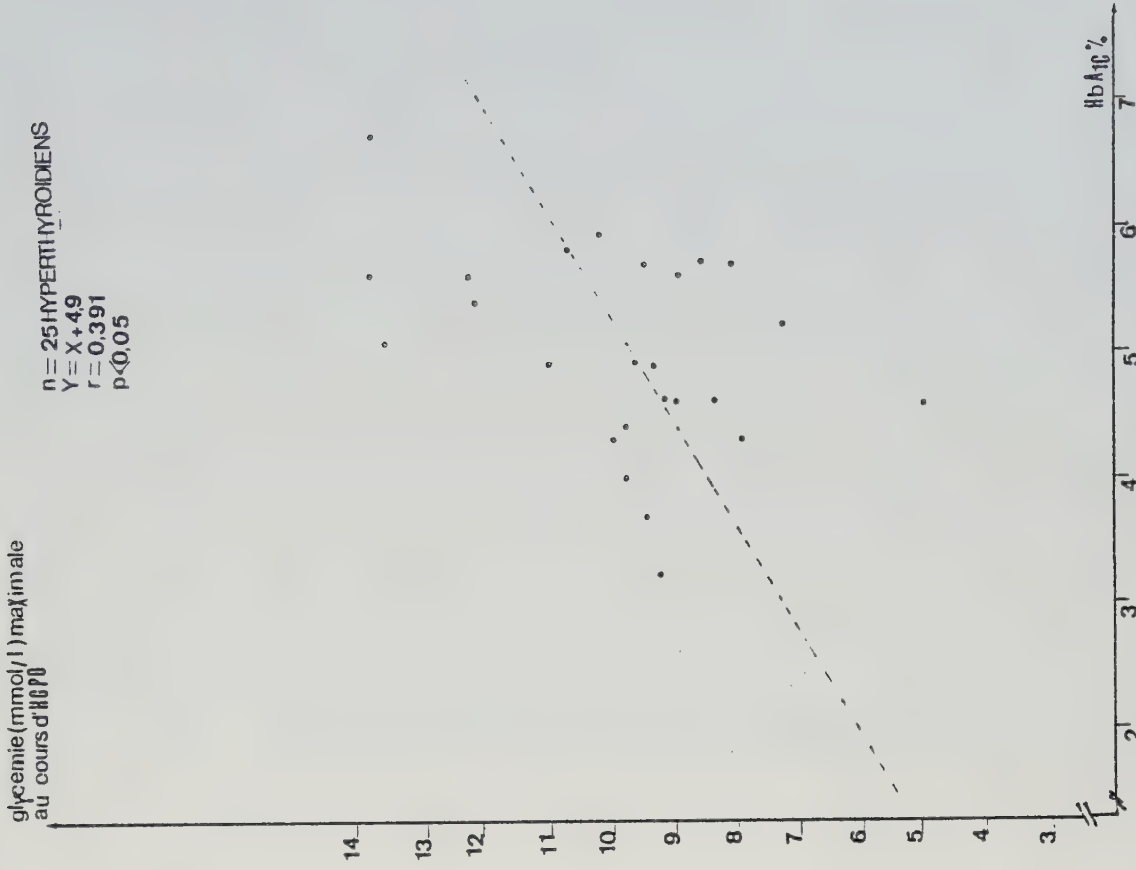
$n = 23$ obèses
 $Y = 1,02X + 4,15$
 $r = 0,413$
 $p = 0,05$



Relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie maximale au cours de l'HCPO chez l'obèse.

FIGURE 11.

$n = 25$ HYPERTHYROIDIENS
 $Y = X + 49$
 $r = 0,391$
 $p < 0,05$



Relation entre le taux d'HbA_{1c} et la glycémie maximale au cours de l'HCPO chez l'hyperthyroïdien.

TABLEAUX RECAPITULATIFS.

TABLEAUX XII, XIII, XIV : DONNEES CLINIQUES ET RESULTATS BIOLOGIQUES CHEZ LES
27 SUJETS HYPERTHYROÏDIENS.

TABLEAU X V : DONNEES CLINIQUES ET RÉSULTATS BIOLOGIQUES CHEZ LES 5 SUJETS
HYPOTHYROÏDIENS.

TABLEAUX XVI, XVII, XVIII : DONNEES CLINIQUES ET RESULTATS BIOLOGIQUES CHEZ LES
23 SUJETS OBESES.

TABLEAU XII.

SEXE & N° OBS.	NOM	AGE	ANTECEDENTS	TRAITEM. EN COURS	EXCES PONDÉRAL (%)	TYPE CARACTÈRES CLINIQUES	DURÉE D'ÉVOL. (MOIS)	ITL & T ₃ RI	CHOLEST. & TRIGLY.	HbA _{1c} (%)	HbA _{1c} (%)	HbA _{1c} (%)	H G P O						TEST AU TOLBUTAMIDE						D A T E		
													GLYCÉMIE (MMOL/L)			INSULINÉMIE (U/ML)			GLYCÉMIE (MMOL/L)			INSULINÉMIE (U/ML)					
													Temps		Temps	Temps		Temps	Temps		Temps	Temps		Temps		Temps	
													0' : 5,4	30' : 10,5	60' : 10,7	0' : 8,9	30' : 12,0	60' : 12,6	0' : 25	30' : 88	60' : 124	0' : 5,8	30' : 4,0	60' : 2,5	0' : 19	30' : 79	60' : 52
F 28035	Pau...	66	0	0	20 %	Basedow	3	90	4,0	5,8	5,8	5,8	0' : 5,4	30' : 10,5	60' : 10,7	0' : 8,9	30' : 12,0	60' : 12,6	0' : 25	30' : 88	60' : 124	0' : 5,8	30' : 4,0	60' : 2,5	0' : 19	30' : 79	60' : 52
F 28000	Ple...	41	0	0	0	Adénome toxique	6	3,46	0,7	4,9	4,9	4,9	0' : 4,8	30' : 9,4	60' : 7,9	0' : 5,6	30' : 12,0	60' : 4,2	0' : 62	30' : 57	60' : 11	0' : 5,1	30' : 2,8	60' : 2,9	0' : 12	30' : 101	60' : 53
F 27888	Pag...	63	0	0	0	Basedow	4	79	3,9	5,7	5,7	5,7	0' : 5,3	30' : 9,3	60' : 9,5	0' : 9,1	30' : 12,0	60' : 4,6	0' : 24,2	30' : 70	60' : 134	0' : 5,4	30' : 2,8	60' : 3,1	0' : 38	30' : 266	60' : 145
F 27479	Has...	50	0	g-bloquant	20 %	Basedow	12	93	3,4	5,6	5,6	5,6	0' : 5,3	30' : 9,0	60' : 7,8	0' : 6,5	30' : 12,0	60' : 4,0	0' : 29	30' : 150	60' : 114	0' : 5,4	30' : 2,8	60' : 4,3	0' : 28	30' : 365	60' : 85
F 27293	Dou...	60	Goutte chez 2 enfants	Anti- dépresseur	10 %	Basedow	3	54	3,1	5,6	5,6	5,6	0' : 5,8	30' : 10,0	60' : 13,8	0' : 11,0	30' : 12,0	60' : 6,8	0' : 32	30' : 61	60' : 91	0' : 5,4	30' : 4,1	60' : 3,5	0' : 31	30' : 85	60' : 62
F 27473	Car...	68	0	0	10 %	Récidive Basedow Traitement. ATS	6	83	4,6	5,9	5,9	5,9	0' : 5,1	30' : 8,7	60' : 8,4	0' : 9,9	30' : 10,2	60' : 8,4	0' : 11	30' : 38	60' : 46	0' : 5,4	30' : 2,7	60' : 2,9	0' : 18	30' : 137	60' : 160
F 19698	Pey...	68	Poids de naissance du 1 ^{er} enfant > 4 kgs	0	0	GSB	24	79	4,5	5,6	5,6	5,6	0' : 5,0	30' : 12,3	60' : 10,0	0' : 5,9	30' : 12,0	60' : 4,8	0' : 16	30' : 77	60' : 107	0' : 5,5	30' : 2,2	60' : 3,8	0' : 12	30' : 150	60' : 109
F 27217	Bro...	56	0	0	0	Basedow	10	45	6,4	5,7	5,7	5,7	0' : 5,1	30' : 8,1	60' : 8,0	0' : 7,5	30' : 12,0	60' : 6,0	0' : 13	30' : 53	60' : 48	0' : 5,5	30' : 1,3	60' : 3,3	0' : 12	30' : 150	60' : 150
F 27901	Lam...	57	Sœur DMID	0	0	GSB	3	90	4,0	5,4	5,4	5,4	0' : 4,9	30' : 10,2	60' : 12,2	0' : 12,0	30' : 9,1	60' : 6,0	0' : 7	30' : 31	60' : 24	0' : 5,7	30' : 3,9	60' : 3,3	0' : 16	30' : 115	60' : 75

TABLEAU XIII.

SEXE & N° OBS.	NOM	AGE	ANTECEDENTS	TRAITEM. EN COURS	EXCES PONDERAL (%)	TYPE CARACTERES CLINIQUES	DUREE D'EVOL. (MOIS)	ITL & T ₃ R ₁	CHOLEST. & TRIGLY.	HbA _{1c} ANALYSE (%)	HbA _{1c} ANALYSE (%)	TEST AU TOLBUTAMIDE						DATE		
												II G		P O		TEST AU TOLBUTAMIDE				
												GLYCEMIE (MMOLES/L)		INSULINEMIE (uU/ML)		GLYCEMIE (MMOLES/L)			INSULINEMIE (uU/ML)	
												Temps	Temps	Temps	Temps	Temps	Temps		Temps	Temps
F 27863	Put...	50	Frère DMID Goître familial Prise d'iode	0	0	Basedow	5	86 4,4	4,0 0,6	4,4		0' : 5,0 30' : 8,0 60' : 9,8	90' : 7,5 120' : 6,0 180' : 4,6	0' : 4,7 30' : 3,1 60' : 3,2	90' : 120' : 3,3 180' : 3,4	0' : 33 30' : 72 60' : 63	90' : 68 120' : 64 180' : 44	0' : 36 2' : 150 5' : 150	10' : 150 30' : 83 60' :	5/80
F 27306	Bou...	67	0	Antalgique	25 %	GHMT	6	43 2,85	7,8 2,35	4,0		0' : 6,4 30' : 9,8 60' : 9,4	90' : 9,7 120' : 9,2 180' : 5,3	0' : 6,1 30' : 3,1 60' : 3,6	90' : 120' : 4,7 180' : 4,4	0' : 26 30' : 102 60' : 57	90' : 54 120' : 73 180' : 22	0' : 24 2' : 276 5' : 203	10' : 110 30' : 60' :	6/80
F 27728	Don...	45	0	0	0	Basedow	4	69 4,94	5,4 1,35	5,1		0' : 5,2 30' : 11,0 60' : 13,6	90' : 9,5 120' : 6,2 180' : 3,6	0' : 5,3 30' : 4,0 60' : 2,9	90' : 120' : 4,0 180' : 4,1	0' : 10,7 30' : 60 60' : 96	90' : 84 120' : 48 180' : 20	0' : 10,7 2' : 60 5' : 60	10' : 51 30' : 42 60' :	5/80
F 7389	Cor...	43	0	Multiple	0	Récidive Basedow Traitement. ATS	3	113 8,22	3,6 0,9	3,2		0' : 4,8 30' : 7,9 60' : 9,3	90' : 7,8 120' : 4,3 180' : 4,0	0' : 5,3 30' : 2,2 60' : 3,3	90' : 120' : 3,6 180' : 4,1	0' : 18 30' : 45 60' : 67	90' : 58 120' : 34 180' : 10,9	0' : 17 2' : 150 5' : 118	10' : 89 30' : 35 60' :	1/80
F 27867	Dyd...	45	0	0	0	Basedow	4	54 3,54	3,4 1,0	3,7		0' : 5,6 30' : 9,5 60' : 8,6	90' : 5,6 120' : 4,8 180' : 4,0	0' : 4,9 30' : 2,4 60' : 3,1	90' : 120' : 3,5 180' : 3,7	0' : 24 30' : 11 60' : 109	90' : 38 120' : 25 180' : 15	0' : 9 2' : 119 5' : 108	10' : 76 30' : 32 60' :	5/80
F 27845	Pal...	55	0	β-Bloquant Digital. Tranquill.	0	CHMT	4	88 3,7	5,4 1,35	4,3		0' : 5,5 30' : 8,0 60' : 6,2	90' : 6,1 120' : 5,6 180' : 4,2	0' : 5,3 30' : 2,7 60' : 3,6	90' : 120' : 3,9 180' : 4,1	0' : 19 30' : 123 60' : 81	90' : 65 120' : 40 180' : 20	0' : 16 2' : 118 5' : 93	10' : 88 30' : 53 60' :	5/80
F 23367	Cha...	26	Grand-mère DMID	0	0	Récidive Basedow	4	97 5,19	3,9 0,8	4,9		0' : 5,0 30' : 9,6 60' : 7,9	90' : 6,2 120' : 4,4 180' : 7,2	0' : 5,3 30' : 3,1 60' : 3,4	90' : 120' : 3,8 180' : 3,4	0' : 8,0 30' : 59 60' : 43	90' : 21 120' : 12 180' : 9,0	0' : 10 2' : 74 5' : 47	10' : 25 30' : 25 60' :	5/80
H 10657	Mou...	55	0	Neuro- leptique	0	Basedow	6	26 2,76	4,7 1,35	4,3		0' : 4,7 30' : 10 60' : 7,2	90' : 4,7 120' : 4,9 180' : 4,0	0' : 4,3 30' : 2,6 60' : 2,9	90' : 120' : 3,5 180' : 4,1	0' : 15 30' : 83 60' : 36	90' : 17 120' : 14 180' : 14	0' : 14 2' : 89 5' : 83	10' : 36 30' : 25 60' :	5/80

TABLEAU XIV.

SEXE & N° OBS.	NOM	AGE	ANTECEDENTS	TRAITEM. EN COURS	EXCES PONDÉRAL (%)	TYPE CARACTÈRES CLINIQUES	DURÉE D'ÉVOL. (MOIS)	ITL & T ₃ RI	CHOLEST. & TRIGLY.	HbA _{1c} Av. GUER. AP. GUER. (%)	HbA _{1c} Av. GUER. AP. GUER. (%)	H G P O			TEST AU TOLBUTAMIDE			DATE			
												GLYCÉMIE (MMOLES/L)	INSULINÉMIE (µU/NL)	GLYCÉMIE (MMOLES/L)	GLYCÉMIE (MMOLES/L)	INSULINÉMIE (µU/NL)	INSULINÉMIE (µU/NL)				
																	Temps		Temps	Temps	Temps
F 27860	Jau...	31	Goître frère Père DID	Lithium	0	Basedow	12	67 2,75	6,0 1,6	4,6	4,6	0' : 4,1 30' : 4,7 60' : 5,0	90' : 3,9 120' : 4,5 180' : 4,4	0' : 11 30' : 51 60' : 67	90' : 32 120' : 46 180' : 8	0' : 4,1 30' : 1,4 60' : 2,7	90' : 120' : 3,3 180' : 3,4	0' : 7 2' : 71 5' : 60	10' : 64 30' : 17 60' : 60	4/80	
F 27742	Lac...	31	Goître famil. Prise de T ₄	0	10 %	Basedow	20	67 4,5	4,4 1,2	4,9	4,9	0' : 5,4 30' : 11 60' : 8,0	90' : 4,6 120' : 4,0 180' : 3,7	0' : 18 30' : 103 60' : 30	90' : 53 120' : 24 180' : 18	0' : 5,2 30' : 3,4 60' : 3,4	90' : 120' : 4,2 180' : 4,5	0' : 15 2' : 90 5' : 80	10' : 82 30' : 36 60' : 60	3/80	
F 27546	Bla...	51	0	0	12 %	Basedow	5	52 2,9	5,2 1,35	4,6	4,8	0' : 5,4 30' : 9,2 60' : 4,5	90' : 5,3 120' : 4,4 180' : 4,1	0' : 14 30' : 60 60' : 57	90' : 34 120' : 22 180' : 14	0' : 5,3 30' : 2,7 60' : 3,6	90' : 120' : 3,7 180' : 38	0' : 21 2' : 60 5' : 100	10' : 96 30' : 60 60' : 60	6/80	
F 27752	Cha...	48	DMID famil.	0	20 %	Adénome toxique	6	26 1,72	4,8 0,7	5,2	5,2	0' : 4,9 30' : 7,0 60' : 5,2	90' : 7,3 120' : 7,2 180' : 4,4	0' : 17 30' : 51 60' : 26	90' : 31 120' : 41 180' : 22	0' : 4,5 30' : 2,3 60' : 3,0	90' : 120' : 3,2 180' : 3,4	0' : 21 2' : 82 5' : 92	10' : 68 30' : 35 60' : 60	3/80	
F 11968	Les...	68	Père DMID.	0	0	Adénome toxique	6	65 3,79	5,2 0,7	6,7	6,7	0' : 6,1 30' : 11 60' : 13,8	90' : 10 120' : 6 180' : 5,5	0' : 12,6 30' : 29 60' : 108	90' : 65 120' : 21 180' : 9					1/80	
F 27429	Mau...	49	0	0	10 %	Basedow	4	89 5,27	5,1 1,1	5,7	4,2	0' : 4,9 30' : 8,6 60' : 8,0	90' : 7,4 120' : 5,3 180' : 4,0	0' : 23 30' : 47 60' : 66	90' : 82 120' : 33 180' : 28					3/80	
F 27389	Gef...	27	0	Oestropro- gestatifs	0	Basedow	6	83 5,96	3,5 1,0	4,6	4,6	0' : 4,7 30' : 8,4 60' : 7,9	90' : 8,2 120' : 6,8 180' : 6,0	0' : 13 30' : 43 60' : 48	90' : 64 120' : 50 180' : 22					2/80	
F 27392	Bul...	22	0	Oestropro- gestatifs	10 %	GSB	8	100 5,84	3,9 0,9	4,6	4,6	0' : 4,9 30' : 6,1 60' : 9,0	90' : 7,1 120' : 6,0 180' : 4,6	0' : 24 30' : 100 60' : 23	90' : 66 120' : 37 180' : 23						

TABLEAU XVI.

SEXE & N° OBS.	NOM	AGE	ANTECEDENTS	TRAITEM. EN COURS	EXCES POURCENT (%)	TYPE	POIDS MAXI. (Kgs)	POIDS A 20 ANS (Kgs)	CHOLEST. & TRIGLY. (CHS)	HbA _{1c} Av. GUER. (%)	HbA _{1c} Av. GUER. (%)	TEST AU TOLBUTAMIDE						DATE		
												GLYCÉMIE (MMOL/L)	INSULINÉMIÉ (U/ML)	GLYCÉMIE (MMOL/L)	INSULINÉMIÉ (U/ML)	GLYCÉMIE (MMOL/L)			INSULINÉMIÉ (U/ML)	
																Temps	Temps		Temps	Temps
H 1....	Car...	32	0	0	10 %	Androïde	70	65/168	2,5 0,8	5,7		0' : 5,3 30' : 9,7 60' : 8,5	90' : 6,2 120' : 5,0 180' : 4,8	0' : 8 30' : 37 60' : 43	90' : 25 120' : 17 180' : 11	0' : 6,6 30' : 4,8 60' : 4,1	90' : 120' : 180' :	0' : 13 2' : 60 5' : 45	10' : 36 30' : 20 60' :	6/80
F 27655	Bue...	62	0	β-Bloquant Trinitrine Anti- déresseur	> 50 %	Mixte	86	45/146	4,9 1,15	5,6		0' : 7 30' : 4,4 60' : 12,7	90' : 14 120' : 4,5 180' : 6,0	0' : 27 30' : 150 60' : 150	90' : 120' : 180' : 128	0' : 6,8 30' : 5,9 60' : 5,1	90' : 120' : 4,3 180' : 3,6	0' : 22 2' : 51 5' : 79	10' : 67 30' : 74 60' :	4/80
F 27665	Lop...	21	Père obèse	Prise de T ₄	35 %	Androïde + Hirsutisme	76	76/160	4,4 0,55	5,7		0' : 5,2 30' : 8,2 60' : 10,7	90' : 9,9 120' : 6,7 180' : 3,9	0' : 20 30' : 80 60' : 68	90' : 116 120' : 15 180' : 17	0' : 4,6 30' : 3,7 60' : 3,3	90' : 120' : 4,2 180' : 4,2	0' : 17 2' : 93 5' : 82	10' : 73 30' : 36 60' :	4/80
H 11009	Jea...	62	0	0	40 %	Androïde	103	80/175	6,6 2,4	5,9		0' : 5,1 30' : 8,9 60' : 11,5	90' : 13,1 120' : 10,8 180' : 5,9	0' : 21 30' : 50 60' : 88	90' : 150 120' : 85 180' : 52	0' : 7,4 30' : 5,8 60' : 4,8	90' : 120' : 4,0 180' : 4,0	0' : 29 2' : 145 5' : 147	10' : 150 30' : 81 60' :	1/80
F 27946	Tin...	52	0	0	> 50 %	Mixte	89	65/155	7,1 1,115	5,8		0' : 5,5 30' : 5,9 60' : 6,0	90' : 5,4 120' : 5,5 180' : 4,5	0' : 15 30' : 33 60' : 14	90' : 34 120' : 31 180' : 12					6/80
F 27406	Deg...	32	Sœur obèse	Oestropo- gestatifs	> 50 %	Gynoïde	86	46/155	6,0 0,75	4,8		0' : 6,4 30' : 11,5 60' : 11,5	90' : 10,5 120' : 9,0 180' : 6,9	0' : 31 30' : 147 60' : 141	90' : 123 120' : 92 180' : 78	0' : 4,8 30' : 4,1 60' : 3,4	90' : 120' : 3,3 180' : 3,5	0' : 28 2' : 5' :	10' : 116 30' : 73	2/80
F 27649	Rab...	37	Obésité faml. grand-père et père DNID	Quinine	30 %	Mixte	76	60/157	5,0 1,7	3,9		0' : 5,2 30' : 8,6 60' : 4,7	90' : 11 120' : 8,3 180' : 4,4	0' : 13 30' : 15 60' : 55	90' : 95 120' : 75 180' : 19	0' : 6,6 30' : 3,8 60' : 2,8	90' : 120' : 3,7 180' :	0' : 24 2' : 70 5' : 65	10' : 57 30' : 47 60' :	3/80
F 8661	Lat...	50	0	0	> 50 %	Mixte	95	47/151	9,2 2,25	5,2		0' : 5,6 30' : 9,6 60' : 9,6	90' : 9,3 120' : 8,2 180' : 4,6	0' : 26 30' : 91 60' : 50	90' : 61 120' : 180' :	0' : 5,3 30' : 4,1 60' : 3,5	90' : 120' : 3,7 180' : 4,2	0' : 14 2' : 79 5' : 56	10' : 69 30' : 45 60' :	3/80

TABLEAU XVII.

SEXE & N° OBS.	NOM	AGE	ANTECEDENTS	TRAITEM. EN COURS	EXCES PONDERAL (%)	TYPE	POIDS MAXI. (Kgs)	POIDS A 20 ANS (Kgs)	CHOLEST. & TRIGLY. (GMS)	HbA _{1c} (%)	HbA _{1c} AP. GUER. (%)	II 6			P 0			TEST AU TOLUTAMIDE			DATE			
												GLYCÉMIE (MMOL/L)			INSULINÉMIE (U/ML)			GLYCÉMIE (MMOL/L)				INSULINÉMIE (U/ML)		
												Temps	Temps	Temps	Temps	Temps	Temps	Temps	Temps	Temps		Temps	Temps	Temps
F 27086	Viv...	24	Prise poids pendant la grossesse > 30 Kgs	0	> 50 %	Mixte	107	64/152	3,8 1,05	4,3		0' : 5,4 30' : 7,5 60' : 9,5	90' : 9,7 120' : 5 180' : 3,4	0' : 12,7 30' : 4,3 60' : 5,6	90' : 78 120' : 44 180' : 18	0' : 4,7 30' : 3,6 60' : 2,9	90' : 120' : 3,3 180' : 3,4	0' : 11,2 2' : 68 5' : 32	10' : 21 30' : 7,5 60' :	1/80				
F 27298	Flu...	46	Père obèse	Diurétique	> 50 %	Mixte	117	60/164	4,8 1,8	4,3		0' : 5,5 30' : 7,8 60' : 7,4	90' : 7,2 120' : 7,5 180' : 4,1	0' : 31,7 30' : 137 60' : 107	90' : 123 120' : 88 180' : 32,5	0' : 5,8 30' : 4,1 60' : 3,5	90' : 120' : 3,7 180' : 3,9	0' : 27,8 2' : > 150 5' : > 150	10' : 143 30' : 57,6 60' :	3/80				
F 27256	Pom...	44	Père DID Poids de naissance 2° enfant=5,8 3° enfant=4,6	Antalgique	> 50 %	Mixte	93	67/160	6,0 2,2	3,4		0' : 5,3 30' : 8,1 60' : 8,8	90' : 7,6 120' : 6,3 180' : 5,4	0' : 33,6 30' : 81 60' : 57	90' : 56 120' : 32 180' : 30	0' : 5,7 30' : 4,4 60' : 3,3	90' : 120' : 4 180' : 4	0' : 32 2' : 108 5' : 114	10' : 78 30' : 63 60' :	2/80				
F 27680	Cur...	35	Mère obèse	0	> 50 %	Mixte	83	51/146	5,4 0,8	5,3		0' : 4,9 30' : 8,5 60' : 9	90' : 7,3 120' : 3,3 180' : 3,1	0' : 19,2 30' : 52 60' : 100	90' : 60 120' : 22 180' : 13	0' : 5,4 30' : 3,3 60' : 2,4	90' : 120' : 3,3 180' : 3,6	0' : 22 2' : 113 5' : 78	10' : 89 30' : 57 60' :	4/80				
F 11871	Ber...	38	Grand-père DNID	0	> 50 %	Androïde	125	80/170	7,6 1,4	4,5		0' : 6,2 30' : 9,2 60' : 8,1	90' : 6,8 120' : 4,9 180' : 4,4	0' : 23,9 30' : 140 60' : 80	90' : 36 120' : 18,5 180' : 17	0' : 5,3 30' : 4,5 60' : 4,1	90' : 120' : 4,6 180' : 4,4	0' : 18 2' : > 150 5' : 140	10' : 91,2 30' : 29,4 60' :	1/80				
F 27448	Lau...	50	Grand-père obèse	Vitamine D Calcium Antiinflam- matoires	> 50 %	Androïde	88	60/162	7,6 1,4	5,1		0' : 5,2 30' : 7,8 60' : 7,1	90' : 7,3 120' : 6,0 180' : 4,4	0' : 27,2 30' : 116 60' : 128	90' : > 150 120' : 99 180' : 55	0' : 5 30' : 3,5 60' : 3,5	90' : 120' : 4,0 180' : 4,4	0' : 24,5 2' : 133 5' : 114	10' : 60 30' : 60' :	2/80				
F 27533	Fau...	31	Père obèse Mère DNID.	Antalgique	> 50 %	Mixte	120	70/170	3,4 2,1	3,7		0' : 5,5 30' : 7,5 60' : 6,4	90' : 6,8 120' : 4,3 180' : 3,9	0' : 36 30' : 31 60' : 72	90' : 139 120' : 41 180' : 32	0' : 4,9 30' : 3,6 60' :	90' : 120' : 3,4 180' : 3,6	0' : 31,4 2' : > 150 5' : 125	10' : 114 30' : 53 60' : 34	2/80				
F 27247	Hes...	54	Père DNID.	β-bloquant	45 %	Androïde	69	50/154	7,5 1,15	4,3		0' : 5,9 30' : 8,7 60' : 8,8	90' : 8,5 120' : 7,6 180' : 4	0' : 17 30' : 82 60' : 50	90' : 51 120' : 67 180' : 15	0' : 4,9 30' : 2,9 60' : 3,1	90' : 120' : 3,6 180' : 3,6	0' : 8,8 2' : 98 5' : 87	10' : 79 30' : 39 60' :	1/80				

CONCLUSIONS.

C O N C L U S I O N S

1) La détermination du taux de l'hémoglobine Alc (HbAlc) a été proposée comme un nouvel élément d'évaluation de la qualité du contrôle glycémique.

Formée par condensation non enzymatique et irréversible entre le glucose et l'hémoglobine, cette fraction mineure "à migration électrophorétique rapide" représente normalement 4 % de l'hémoglobine adulte totale. Elle peut s'élever jusqu'à deux ou trois fois au dessus de cette concentration chez le sujet diabétique. La mesure de la fraction glycohémoglobinique Alc représente l'intégration de la glycémie durant les cent vingt jours de la vie du globule rouge. Elle a l'avantage d'être un test objectif permettant une évaluation précise du contrôle métabolique des deux mois précédents.

Pour son application en biologie clinique, un tel dosage doit être facile, précis et reproductible en routine. La variété des différents procédés apparus depuis celui de TRIVELLI (microchromatographie, chromatographie en haute pression, isoélectrofocalisation, colorimétrie ou radioimmunologie) montre que cet objectif n'est pas encore atteint.

2) Nous avons effectué une étude comparative de deux méthodes de détermination, l'une correspondant à celle de TRIVELLI légèrement modifiée, l'autre chromatographique sur microcolonnes présentée sous forme de trousse prête à l'emploi (Laboratoire BIORAD). Les dosages ont été pratiqués le même jour, sur le même échantillon de sang, dans trois populations composées de :

- 11 diabétiques insulino-dépendants (DID), huit hommes et trois femmes âgés de 20 à 69 ans ;
- 5 diabétiques non insulino-dépendants (DNID), trois hommes et deux femmes âgés de 37 à 80 ans ;
- 32 sujets témoins normaux, sans antécédents pathologiques, 17 femmes et 15 hommes, âgés de 20 à 50 ans. 6 femmes étaient sous oestroprogestatifs.

3) Le taux moyen d'HbAlc est de :

- 4.75 ± 0.78 % avec la technique de TRIVELLI et de 8.68 ± 2.76 % avec les microcolonnes pour les sujets témoins, avec des coefficients de variation respectivement de 16.62 % et 31.66 %.
- 6.4 ± 1.97 % par notre technique chromatographique contre 12.2 ± 2.31 % avec la trousse BIORAD, avec des coefficients de variation respectifs de 21 et 19 %, ceci chez les diabétiques non insulino-dépendants.
- 8.75 ± 2.31 % avec le TRIVELLI modifié et 14.42 ± 5.44 % sur microcolonnes BIORAD avec des coefficients de variation de 27 à 39 % respectivement, chez les diabétiques insulino-dépendants.

Les taux d'HbA1c sont significativement différents ($p < 0.05$) entre populations témoins et diabétiques pour les deux méthodes, mais avec un pouvoir plus discriminatif pour la technique de TRIVELLI adaptée, d'autant qu'il existe une différence significative entre les taux moyens d'HbA1c calculés par notre technique chez les DNID et les DID ($p < 0.05$), qui n'est pas retrouvée avec le procédé BIORAD.

Il existe une corrélation à la limite de la signification statistique entre les deux méthodes pour les sujets témoins d'une part et diabétiques d'autre part ($p = 0.04$).

Comme le montrent moyennes et déviations standard, les résultats sont plus dispersés avec le procédé BIORAD dans chaque population.

Ainsi, si certaines méthodes apparaissent faciles d'emploi et applicables en routine, le choix de celles-ci doit tenir compte de la valeur limitée des résultats qu'elles fournissent.

4) A l'aide de la technique chromatographique de TRIVELLI modifiée, nous avons d'autre part étudié deux groupes de sujets chez lesquels il est classique d'observer des troubles de la glycorégulation:

-30 malades présentant des troubles de la fonction thyroïdienne :

- 25 hyperthyroïdiens, 23 femmes et 2 hommes, âgés de 22 à 68 ans, dont le taux moyen d'HbA1c est de $5 \pm 0.8 \%$, superposable à celui de la population témoin. Comme chez le sujet normal, le taux de l'hémoglobine A1c s'élève avec l'âge, notamment de façon significative pour la tranche de 60 à 70 ans, traduisant fidèlement l'altération du métabolisme glucidique et l'élévation de la glycémie avec le temps. Nous avons comparé ce paramètre à des critères traditionnels de diagnostic du diabète : hyperglycémie provoquée orale (H.G.P.O.) et test au tolbutamide couplés à l'insulinémie. Suivant le critère d'interprétation, 33 à 55 % des sujets ayant des courbes d'H.G.P.O. pathologiques avaient des taux d'HbA1c normaux. Le test au tolbutamide est normal chez tous les sujets étudiés. Il existe une corrélation significative ($p < 0.05$) entre l'hémoglobine A1c et la glycémie à 90 minutes, à 120 minutes, la somme des glycémies durant l'H.G.P.O.

En pratique, si l'H.G.P.O. est fréquemment perturbée dans l'hyperthyroïdie, le taux d'hémoglobine A1c reste un bon critère de dépistage du diabète.

- 5 hypothyroïdiens, 4 femmes et un homme âgés de 29 à 61 ans, dont le taux moyen d'HbA1c est de $4.2 \pm 0.6 \%$, significativement plus bas ($p < 0.05$) que celui des hyperthyroïdiens. Les H.G.P.O. sont normales.

-23 obèses, 19 femmes et 4 hommes âgés de 21 à 72 ans, dont le taux moyen d'HbA1c est de $4.76 \pm 0.76 \%$, semblable à celui de la population témoin. Ici aussi, le taux d'HbA1c s'élève avec l'âge, de façon significative pour la tranche de 60 à 70 ans. Suivant le critère d'interprétation, 33 à 75 % des sujets ayant des courbes d'H.G.P.O. pathologiques

avaient des taux d'HbA1c normaux. 70 % des sujets dont le test au tolbutamide était perturbé avaient un taux d'HbA1c normal.

Il existe une corrélation significative entre le taux d'HbA1c et la flèche hyperglycémique au cours de l'H.G.P.O.

La comparaison de ce nouveau paramètre avec des critères traditionnels de dépistage du diabète le fait apparaître comme un moyen complémentaire fidèle pour évaluer les troubles de la glycorégulation.

Le Président de la Thèse :

M. le Professeur GUINET .

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Lyon, le 11.8.80.

Le Président de l'Université Claude Bernard
LYON I - Professeur D. GERMAIN

Le Doyen de l'U.E.R. LYON NORD
Docteur Y. MINAIRE
Maître de Conférences agrégé

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - Abraham E.C., Huff T.A., Cope N.D., Wilson J.B.,
Bransome E.D., Huisman T.H.J.:
Determination of the glycosylated hemoglobins (HbA1) with a
new microcolumn procedure.
Diabetes, 1978, 27, 931-937.

- 2 - Allen D.W., Schroeder W.A., Balog J.:
Observations on the chromatographic heterogeneity of normal
adult and fetal human hemoglobin: a study of the effects of
crystallization and chromatography on the heterogeneity and
isoleucine content.
J. Amer. Chem. Soc., 1958, 80, 1628-1634.

- 3 - Barraud E.:
L'hémoglobine glycosylée.
Thèse Médecine, 1978, Paris VI. Broussais. Hôtel-Dieu, n°76.

- 4 - Basset P., Beuzard Y., Garel M.C., Rosa J.:
Isoelectric focusing of human hemoglobin: its application to
screening, to the characterization of 70 variants and to the
study of modified fractions of normal hemoglobins.
Blood, 1978, 51, 971-981.

- 5 - Beccaria L., Chiumello G., Gianazza E., Luppis B., Righetti P.G.:
Hemoglobin A1c: separation by isoelectric focusing.
Am. J. Hematol., 1978, 4, 367-374.

- 6 - Beylot M.:
L'hémoglobine A1c dans le diabète sucré.
Lyon Méd., 1979, 242, 169-170.

- 7 - Beylot M., Temori S.A., Haond P., Orgiazzi J., Revol A., Noel G.:
Dosage de l'hémoglobine A1c par isoélectrofocalisation. Ré-
sultats dans le diabète insulino-dépendant et non insulino-
dépendant.
Lyon Méd., 1979, 242, 179-184.

- 8 - Bolli G., Cartechini M.G., Compagnucci P., Santeusano F.,
Massi-Benedetti M., Calabrese G., Puxeddu A., Brunetti P.:
Modification of glycosylated hemoglobin concentration du-
ring artificial endocrin pancreas treatment of diabetics.
Diabetologia, 1980, 18, 125-130.

- 9 - Bolli G., Compagnucci P., Cartechini M.G., Santeusanio F.,
Ciotto C., Scionti L., Brunetti P.:
HbA1 in subjects with abnormal glucose tolerance, but normal
fasting plasma glucose.
Diabetes, 1980, 29, 272-277.
- I0 - Bookchin R.M., Gallop P.M.:
Structure of hemoglobin A1c: nature of the N-terminal -chain
Blocking group.
Bioch. Biophys. Res. Commun., 1978, 32, 86-93.
- II - Bunn H.F., Briehl R.W., Larrabee P., Hobart V.:
The interaction of 2-3 diphosphoglycerate with various human
hemoglobins.
J. Clin. Invest., 1970, 49, 1088-1095.
- I2 - Bunn H.F., Gabbay K.H., Gallop P.M.:
The glycosylation of hemoglobin: relevance in diabetes mellitus.
Science, 1978, 200, 21-27.
- I3 - Bunn H.F., Haney D.N., Gabbay K.H.:
Further identification of the nature and linkage of the carbo-
hydrate in hemoglobin A1c.
Bioch. Biophys. Res. Commun., 1975, 67, 103-109.
- I4 - Bunn H.F., Haney D.N., Kamin S., Gabbay K.H., Gallop P.M.:
The biosynthesis of human hemoglobin A1c. Slow glycosylation
of hemoglobin in vivo.
J. Clin. Invest., 1976, 57, 1652-1659.
- I5 - Bunn H.F., Shapiro R., McManus M., Garrick L., McDonald M.J.,
Gallop P.M., Gabbay K.H.:
Structural heterogeneity of human hemoglobin. A due to non-
enzymatic glycosylation.
J. Biol. Chem., 1979, 254, 3892-3898.
- I6 - Carrell R.W., Kay R.:
A simple method for the detection of unstable haemoglobin.
Br. J. Haematol., 1972, 23, 615-619.
- I7 - Casparie A.F., Miedema K.:
Glycosylated haemoglobin in diabetes and renal failure.
Lancet, 1977, II, 758-759.

- 18 - Cerami A., Koenig R., Peterson C.M.:
Haemoglobin A1c and diabetes mellitus.
Br. J. Haematol., 1978, 38, 1-4.
- 19 - Charitansky D., Blouquit Y., Papoz L., Soria J., Rosa J.,
Tchobroutsky G., Senan C., Desplanque N.:
Contrôle du diabète non traité par l'insuline: 107 ob-
servations.
Nouv. Presse Méd., 1980, 9, 585-589.
- 20 - Clarke J., Canivet J.:
Haemoglobin A1c: separation by micro-column chromatography:
a new rapid method of assay.
Diabète Métab., 1979, 5, 293-296.
- 21 - Clarke J., Passa P., Canivet J.:
Hémoglobine A1c: intérêt de son dosage chez les diabétiques.
Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 513-517.
- 22 - Clegg M.D., Schroeder W.A.:
A chromatographic study of the minor components of normal
adult human hemoglobin including a comparison of hemoglobin
from normal and phenylketonuric individuals.
J. Amer. Chem. Soc., 1959, 81, 6065-6069.
- 23 - Cole R.A., Bunn H.F., Soeldner J.S.:
New rapid assay method for hemoglobin A1c and total fast
hemoglobin.
Diabetes, 1977, Suppl.I, 392.
- 24 - Cole R.A., Soeldner J.S., Dunn P.J., Bunn H.F.:
A rapid method for the determination of glycosylated hemoglo-
bins using high pressure liquid chromatography.
Metabolism, 1978, 27, 289-301.
- 25 - Collier B.S., Frank R.N., Milton R.C., Gralnick H.R.:
Plasma cofactors of platelet function: correlation with dia-
betic retinopathy and hemoglobins A1a-c. Studies in diabetic
patients and normal persons.
Ann. Intern. Med., 1978, 88, 311-316.
- 26 - Darragon T., Menez J.F., Mabin D., Caroff J., Bardou L.,
Bercovici J.P.:
Corrélations entre le taux d'hémoglobine glycosylée, le taux de
peptide C, et la vitesse de conduction nerveuse motrice chez
30 diabétiques insulino-prives.
Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 3357.

- 27 - Dastugue B., Krishnamoorthy R., Cavagna A.M., Wajcman H., Gacon A.M., Labie D.:
Increased glycosylated hemoglobin level: a tool for diagnosis and an indication of diabetic control? Cellular and biochemical aspects in diabetic retinopathy.
INSERM Symp. n°7, Elsevier Ed., Amsterdam, 1978, 197-203.
- 28 - Davis J.E., McDonald M.J., Jarett L.:
A high-performance liquid chromatography method for hemoglobin A1c.
Diabetes, 1977, 26, Suppl.I, 368.
Diabetes, 1978, 27, I02-I05.
- 29 - Davis J.E., Nicol D.J.:
Measurement of glycosylated hemoglobins.
Lancet, 1978, II, I053.
- 30 - Davis J.E., Nicol D.J.:
A rapid simplified method for routine measurement of glycosylated hemoglobin.
Lancet, 1978, II, 350-351.
- 31 - Ditzel J., Kjaergaard J.J.:
Haemoglobin A1c concentrations after initial insulin treatment for newly discovered diabetes.
Br. Med. J., 1978, I, 741-742.
- 32 - Ditzel J.:
Variations de capacité de charge en oxygène des globules rouges et microangiopathie fonctionnelle du diabète sucré.
Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris.
Flammarion, 1979, 47-55.
- 33 - Ditzel J., Nielsen N.V., Kjaergaard J.J.:
Hemoglobin A1c and red cell oxygen release capacity in relation to early retinal changes in newly discovered overt and chemical diabetics.
Metabolism, 1979, 28, Suppl.I, 440-447.
- 34 - Dods R.F., Bolmey C.:
Glycosylated hemoglobin assay and oral glucose tolerance test compared for detection of diabetes mellitus.
Clin. Chem., 1979, 25, 764-768.

- 35 - Dolhofer R., Städele A., Wieland O.H.:
Clinical and biochemical studies on the significance and formation of hemoglobin A_{1c} and A₁(a+b) in diabetes mellitus.
Klin. Wochenschr., 1977, 55, 945-954.

- 36 - Drabkin D.L.:
A simplified technical longscale crystallization of human hemoglobin. Isomorphous transformations of hemoglobin and myoglobin in the crystallization.
Arch. Biochem., 1949, 21, 224-231.

- 37 - Drysdale J.W., Righetti P., Bunn H.F.:
The separation of human and animal hemoglobins by isoelectric focusing in polyacrylamide gel.
Biochim. Biophys. Acta, 1971, 229, 42-50.

- 38 - Dunn P.J., Cole R.A., Soeldner J.S., Gleason R.E.:
Reproducibility of hemoglobin A_{1c} and sensitivity to various degrees of glucose intolerance.
Ann. Intern. Med., 1979, 91, 390-396.

- 39 - Dunn P.J., Soeldner J.S., Wacks M.:
Measurement of glycosylated haemoglobins.
Lancet, 1978, II, 838.

- 40 - Elkeles R.S., Wu J., Hambley J.:
Hemoglobin A₁, blood glucose, and high density lipoprotein cholesterol in insulin requiring diabetics.
Lancet, 1978, II, 547-548.

- 41 - Fajans S.S., Conn J.W.:
Prediabetes, subclinical diabetes and latent clinical diabetes: interpretation, diagnosis, treatment. In "on the nature and treatment" of diabetes.
5è Congr. Inter. Diabetes Fed. London, Excerpta Medica, 1965, I ; 461.

- 42 - Fitzgibbons J.F., Koler R.D., Jones R.T.:
Red cell age-related changes of hemoglobins A₁(a+b) and A_{1c} in normal and diabetic subjects.
J. Clin. Invest., 1976, 58, 820-824.

- 43 - Fluckiger R.:
Struktur, Funktion und Synthese von Haemoglobin A_{1c}.
Universität Basel, Ph. D. dissertation, 1978.

- 44 - Fluckiger R., Berger W., Winterhalter K.H.:
Hemoglobin A1c: a reliable index of diabetic control.
Diabetologia, 1977, 13, 393.
- 45 - Fluckiger R., Winterhalter K.H.:
In vitro synthesis of hemoglobin A1c.
FEBS Letters, 1976, 71, 356-360.
- 46 - Fromantin M., Bon R., Couture J.C., Fabrese F., Portal B.,
Gautier D.:
Intérêt du dosage des hémoglobines glycosylées dans le dépis-
tage du diabète.
Médecine et Armées, 1978, 6, 583-587.
- 47 - Fromantin M., Gautier D., Yvert J.P., Bon R.:
Taux de l'hémoglobine glycosylée chez les gastrectomisés.
Médecine et Armées, 1979, 7, 922.
- 48 - Gabbay K.H.:
Glycosylated hemoglobin and diabetic control.
New Engl. J. Med., 1976, 295, 443-444.
- 49 - Gabbay K.H., Haney D.N., Hasty K., Gallop P.M., Bunn H.F.:
Glycosylation of hemoglobin in vivo: a monitor of diabetes
control?
Diabetes, 1976, 25, Suppl.I, 335.
- 50 - Gabbay K.H., Hasty K., Breslow J.L., Ellison R.C., Bunn H.F.,
Gallop P.M.:
Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control
in diabetes mellitus.
J. Clin. Endocr. Metab., 1977, 44, 859-864.
- 51 - Gabbay K.H., Sosenko J.M., Banuchi G.A., Mininsohn M.J.,
Fluckiger R.:
Glycosylated hemoglobins: increased glycosylation of hemoglo-
bin A in diabetic patients.
Diabetes, 1979, 28, 337-341.
- 52 - Gadjos A.:
Intérêt de l'hémoglobine glycosylée dans l'étude du diabète.
Nouv. Presse Méd., 1978, 7, 4199.

- 53 - Gadjos A.:
Les hémoglobines glycosylées. Leur importance chez le diabétique.
Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 2613-2616.
- 54 - Gates S.A.:
Hemoglobin A1c as measure of diabetic control.
N. Y. State J. Med., 1979, I, 63.
- 55 - Gonen B., Rochman H., Tanega S.P., Rubenstein A.H.:
Correlation between HbA1c levels and clinical assessment of diabetic control.
J. Amer. Diabetic Assoc., 1977, 26, 64.
Diabetes, 1977, 26, Suppl.I, 368.
- 56 - Gonen B., Rochman H., Rubenstein A.H., Tanega S.P., Horwith D.L.:
Haemoglobin A1: an indicator of the metabolic control of diabetic patients.
Lancet, 1977, II, 734-736.
- 57 - Graf R.J., Halter J.B., Porte D.:
Glycosylated hemoglobin in normal subjects and subjects with maturity-onset diabetes. Evidence for a saturable system in man.
Diabetes, 1978, 27, 834-839.
- 58 - Graf R.J., Halter J.B., Halar E., Porte D.:
Nerve conduction abnormalities in untreated maturity-onset diabetes: relation to levels of fasting plasma glucose and glycosylated hemoglobin.
Ann. Intern. Med., 1979, 90, 298-303.
- 59 - Graf R., Porte D.:
Glycosylated hemoglobin as an index of glycemia independent of plasma insulin in normal and diabetic subjects.
Diabetes, 1977, 26, Suppl.I, 368.
- 60 - Haney D.N., Bunn H.F.:
Glycosylation of hemoglobin in vitro: affinity labeling of hemoglobin by glucose-6-phosphate.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1976, 73, 3534-3538.
- 61 - Holmquist W.R., Schroeder W.A.:
Properties and partial characterization of adult human hemoglobin A1c.
Biochim. Biophys. Acta, 1964, 82, 639-641.

- 62 - Holmquist W.R., Schroeder W.A.:
The in vitro biosynthesis of hemoglobin A1c.
Biochemistry, 1965, 5, 2504-2512.
- 63 - Holmquist W.R., Schroeder W.A.:
A new N-terminal blocking group involving a Schiff base in hemoglobin A1c.
Biochemistry, 1966, 6, 2489-2503.
- 64 - Huisman T.H.J., Dozy A.M.:
Studies on the heterogeneity of hemoglobin. V. Binding of hemoglobin with oxidized glutathion.
J. Lab. Clin. Med., 1962, 60, 302-319.
- 65 - Huisman T.H.J., Meyering C.A.:
Studies on the heterogeneity of hemoglobin I. The heterogeneity of different hemoglobin types in carboxymethylcellulose and in Amberlite IRC 50 chromatography: qualitative aspects.
Clin. Chim. Acta, 1960, 5, 103-123.
- 66 - Javid J., Pettis P., Koenig R.J., Cerami A.:
Immunologic characterization and quantification of haemoglobin A1c.
Br. J. Haematol., 1978, 38, 329-337.
- 67 - Jeppson J.O.:
Detection of abnormal hemoglobins by analytical thin layer electrophoresis in polyacrylamid gel.
Spectra, 1978, 41, 49-53.
- 68 - Jones M.B., Koler R.D., Jones R.T.:
Microcolumn method for the determination of hemoglobin minor fractions. HbA1a+b and A1c.
Hemoglobin, 1978, 19, 208-211.
- 69 - Jonsson A., Wales R.J.:
Glycosylated haemoglobin and diabetic control.
Br. Med. J., 1978, 2, 639.
- 70 - Kabadi U.M., Eisenstein A.B.:
Glucose intolerance in hyperthyroidism: role of glucagon.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1980, 50, 392-396.

- 71 - Karamanos B., Christacopoulos P., Zachariou N., Korkolis P.:
Rapid changes of the haemoglobin A1c.
Diabetologia, 1977, 13, 406.
- 72 - Kesson C.M., Whitelaw J.W., Ireland J.T.:
Drug induced haemolysis and fast haemoglobin A1 in diabetes mellitus.
~~Br. Med. J.~~ J., 1979, 2, 1037-1038
- 73 - Kjaergaard J.J., Ditzel J.:
Haemoglobin A1c as an index of long-term blood glucose regulation in diabetic pregnancy.
Diabetes, 1979, 28, 694-696.
- 74 - Koenig R.J., Araujo D.C., Cerami A.:
Increased hemoglobin A1c in diabetic mice.
Diabetes, 1976, 25, 1-5.
- 75 - Koenig R.J., Blobstein S.H., Cerami A.:
Structure of carbohydrate of hemoglobin A1c.
J. Biol. Chem., 1977, 252, 2992-2997.
- 76 - Koenig R.J., Cerami A.:
Synthesis of hemoglobin A1c in normal and diabetic mice: potential model of basement membrane thickening.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 1975, 72, 3687-3691.
- 77 - Koenig R.J., Peterson C.M., Jones R.L., Saudek C., Lehrman M., Cerami A.:
Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus.
N. Engl. J. Med., 1976, 295, 417-420.
- 78 - Koenig R.J., Peterson C.M., Kilo C., Cerami A., Williamson J.R.:
Hemoglobin A1c as an indicator of degree of glucose intolerance in diabetes.
Diabetes, 1976, 25, 230-232.
- 79 - Krishnamoorthy R., Gacon G., Labie D.:
Arguments for the deamidation of hemoglobin A1b.
Colloques de l'INSERM, 1977, 70, 309-318.
- 80 - Krishnamoorthy R., Gacon G., Labie D.:
Isolation and partial characterization of hemoglobin A1b.
FEBS Letters, 1977, 77, 99-102.

- 81 - Krishnamoorthy R., Wajcman H., Labie D.:
Isoelectrofocusing: a method of multiple applications for hemoglobin studies.
Clin. Chim. Acta, 1976, 69, 203-209.
- 82 - Kynoch P., Lehmann H.:
Rapid estimation (2 $\frac{1}{2}$ hours) of glycosylated haemoglobin for routine purposes.
Lancet, 1977, II, 16.
- 83 - Lanoe R., Soria J., Soria C., Lacombe C., Volter F., Mary J.Y., Eschwege E.:
Hémoglobine glycosylée et viscosité sanguine.
Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris.
Flammarion, 1979, 57-73.
- 84 - Lanoe R., Thibault N., Eschwege E., Soria J., Soria C., Tchobroutsky G.:
Glycosylated haemoglobin concentrations and clinitest results in insulin-dependent diabetes.
Lancet, 1977, II, 1156-1157.
- 85 - Leading article:
Glycosylated hemoglobins and disease.
Lancet, 1977, II, 22-23.
- 86 - Lecomte M.J., Schoss R., Schoss-Barbette S., Luyckx A.S., Lambotte C., Lefebvre P.J.:
Hémoglobine A1c et contrôle du diabète.
Diabète Métab., 1979, 5, 57-61.
- 87 - Leslie R.D.G., John P.N., Pyke D.A., White J.M.:
Hemoglobin in diabetic pregnancy.
Lancet, 1978, II, 958-959.
- 88 - Leutenegger M., Maquart F.X., Poynard J.P., Borel J.P.:
L'hémoglobine glycosylée et ses relations avec l'équilibre glycémique.
Journées de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris.
Flammarion, 1979, 103-114.
- 89 - Leutenegger M., Poynard J.P., Couchot J., Malgrange D., Borel J.P., Maquart F.X.:
L'hémoglobine A1c, index d'équilibration du diabète sucré? Premiers résultats.
Diabète Métab., 1978, 4, 221.

- 90 - Lev-Ran A., Vander Laan W.P.:
Glycohemoglobins and glucose tolerance.
JAMA, 1979, 241, 912-914.
- 91 - Linquette M., Benoit G.:
Diabète et endocrinopathies.
Précis de Diabétologie, sous la direction de M. Derot.
Masson, 1977, 590-594.
- 92 - McCann V.J., Davis R.E.:
Glycosylated hemoglobin concentrations in patients with diabetic neuropathy.
Acta Diabetologica Latina, 1979, 16, 205.
- 93 - McDonald M.J., Shapiro R., Bleichman M., Solway J., Bunn H.F.:
Glycosylated minor components of human adult hemoglobin.
J. Biol. Chem., 1978, 253, 2327-2332.
- 94 - Maquart F.X., Poynard J.P., Randoux A., Leutenegger M., Borel J.P.:
Evolution of hemoglobin A1c after oral glucose tolerance test in normal subjects.
Biomedecine, 1978, 29, 294-296.
Diabetes, 1978, 2, 431-432.
- 95 - Maquart F.X., Randoux A., Borel J.P., Poynard P.J., Malgrange D., Leutenegger M.:
Microméthode de détermination de l'hémoglobine A1c; technique et premiers résultats.
Biomedecine, 1978, 19, 208-211.
- 96 - Migeon J.:
Exploration fonctionnelle du métabolisme glucidique de l'hyperthyroïdien. Etude comparative de trois épreuves dynamiques chez 25 malades.
Thèse Médecine, Lyon, 1966.
- 97 - Mirouze J., Jaffiol C., Orsetti A., Baldet L.:
Diabète et hyperthyroïdie.
Rev. Médecine, 1979, 20, 1367-1368.
- 98 - O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé):
Rapport d'un comité d'experts. Série de rapports cliniques.
1965, 310.

- 99 - Paulsen E.P.:
Hemoglobin A1c in childhood diabetes.
Metabolism, 1973, 22, 269-271.
- I00 - Paulsen E.P., Koury M.:
Hemoglobin A1c levels in insulin-dependent and independent diabetes mellitus.
Diabetes, 1976, 25, Suppl.2, 890-896.
- I01 - Pecoraro R.E., Graf R.J., Halter J.B., Beiter H., Porte D.:
Comparison of a colorimetric assay for glycosylated hemoglobin with ion-exchange chromatography.
Diabetes, 1979, 28, 1120-1125.
- I02 - Perier C., Chamson A., Farjanel J., Frey J.:
Séparations des différentes fractions hémoglobines chez l'homme. Applications à la détermination quantitative de l'hémoglobine A1c.
Lyon Pharmaceutique, 1979, 30, 457-459.
- I03 - Perier C., Frey J.:
L'hémoglobine normale adulte glycosylée (HbA1c).
Lyon Pharmaceutique, 1979, 30, 453-456.
- I04 - Peterson C.M., Koenig R.J., Jones R.L., Christopher D., Saudek C.D., Cerami A.:
Correlation of serum triglyceride levels and hemoglobin A1c concentrations in diabetes mellitus.
Diabetes, 1977, 26, 507-509.
- I05 - Peterson C.M., Jones R.L., Koenig R.J., Melvin E.T., Lehrman H.L.:
Reversible haematologic sequelae of diabetes mellitus.
Ann. Intern. Med., 1977, 86, 425-429.
- I06 - Poynard J.P., Malgrange D., Couchot J., Caron J., Leutenegger M., Maquart F.X., Than Trong A., Borel J.P.:
Dosage par microméthode de l'hémoglobine A1c chez les diabétiques.
Nouv. Presse Méd., 1978, 7, 1648.
- I07 - Rahbar S.:
An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics.
Clin. Chim. Acta, 1968, 22, 296-298.

- I08 - Rahbar S., Blumenfeld O., Ranney H.M.:
Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 1969, 36, 838-843.
- I09 - Ross I.S., Gibson P.F.:
A semi-automated method for the determination of glycosylated haemoglobin.
Clin. Chim. Acta, 1979, 98, 53-59.
- II0 - Ryall R.G., Graham J.J.:
Routine measurement of glycosylated hemoglobin.
Lancet, 1978, II, 739.
- III - Schneek.A.G, Schroeder W.A.:
The relation between the minor components of whole normal human adult hemoglobin as isolated by chromatography and starch block electrophoresis.
J. Amer. Chem. Soc., 1961, 83, 1472-1478.
- II2 - Schoos R., Schoos-Barbette S., Lambotte C.:
Dosage of hemoglobin A1c by electrofocusing.
Clin. Chm. Acta, 1978, 86, 61-65.
- II3 - Schwartz H.C., King K.C., Schwartz A.L., Edmunds D., Schwartz R.:
Effects of pregnancy on hemoglobin A1c in normal, gestational diabetic and diabetic women.
Diabetes, 1976, 25, III8-II22.
- II4 - Soria J., Soria C., Lanoe R.:
Hémoglobines glycosylées et diabète.
Gaz. Méd. de France, 1979, 86, 425-428.
- II5 - Stevens V.J., Vlassara H., Abati A., Cerami A.:
Non enzymatic glycosylation of hemoglobin.
J. Biol. Chem., 1977, 252, 2998-3002.
- II6 - Svendsen P.A., Christiansen J.S., Welinder B., Nerup J.:
Fast glycosylation of haemoglobin.
Lancet, 1979, I, 603.
- II7 - Tattersall R.B., Pyke D.A., Ranney H.M., Bruckheimer S.M.:
Hemoglobin components in diabetes mellitus: studies in identical twins.
N. Engl. J. Med., 1975, 293, II71-II73.

- II8 - Tchobroutsky G.:
Intérêt du dosage de l'hémoglobine glycosylée dans la surveillance du diabète sucré.
Revue de Médecine, 1979, 10, 655-657.
- II9 - Than Trong An:
Diabète sucré et hémoglobine A1c.
Thèse Médecine, Reims, 1978, n°II2. T 472.
- I20 - Trivelli R.A., Ranney H.M., Lai H.T.:
Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus.
N. Engl. J. Med., 1971, 284, 353-357.
- I21 - Tze W.J., Hirsch-Thompson K., Leichter J.:
HbA1c: an indication of diabetic control.
J. Pediatrics, 1978, 93, 13-16.
- I22 - U.G.D.P. (University Group Diabetes Program):
A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes.
Diabetes, 1970, 19, Suppl.2.
- I23 - Vague J., Vague Ph.:
Diabète et obésité.
Précis de Diabétologie, sous la direction de M. Derot.
Masson, 1977, 633-648.
- I24 - Vague P., Vovan L., Vialettes B., Boustieres C., Serin N.:
L'hémoglobine glycosylée, reflet dans le temps du contrôle du diabète. Etude clinique et expérimentale.
Diabète Metab., 1978, 4, 222.
- I25 - Vague P., Vovan L., Vialettes B., Boustieres C., Serin N.:
Concentration sanguine en hémoglobine (A1c) glycosylée.
Indice du contrôle du diabète dans le mois précédent.
Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 491-494.
- I26 - Wajcman H., Dastugue B., Labie D.:
Hémoglobine glycosylée: résultats de 550 dosages.
Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 1739-1742.
- I27 - Wajcman H., Dastugue B., Labie D.:
Quantitation of hemoglobin A1c. A rapid, automated precision-chromatography technic.
Clin. Chim. Acta, 1979, 92, 33-39.

- I28 - Wajcman H., Duchateau A., Regnault F., Labie D.:
Dosage de l'hémoglobine A1c au cours de la rétinopathie
diabétique.
Réunion d'Ophtalmo-Diabétologie, Nevers, Nov. 1978.
- I29 - Welch S.G.:
Fast glycosylation of haemoglobin.
Lancet, 1979, I, 728.
- I30 - Welch S.G., Boucher B.J.:
A rapid microscale method for the measurement of haemoglobin
A1(a+b+c).
Diabetologia, 1978, I4, 209-211.
- I31 - Welch S.G., Boucher B.J.:
Measurement of glycosylated haemoglobins.
Lancet, Letter, 1978, II, 838.
- I32 - Welch (Test de):
Statistique Appliquée à l'Exploitation des Mesures.
C.E.A. Paris. Masson, I, 127.
- I33 - Widness J.A., Schwartz H.C., Thompson J.A., King K.C.,
Schwartz A.L.:
Glycohemoglobins (HbA1c): a predictor of birth weight in
infants of diabetic mothers.
J.Pediatrics, 1978, 92, 8-12.
- I34 - Wilkerson K.L.C.:
Diabetes mellitus. Diagnosis and treatment.
Am. Diab. Assoc. Inc. New-York, 1964, vol.I.
- I35 - Winterhalter K.H., Glatthaar B.:
Chromatographic separation of HbA1c.
Ser. Haemat., 1971, 4, 84-96.
- I36 - Yue D.K., Morris K., McLennan S., Turtle J.R.:
Glycosylation of plasma protein and its relation to glycosyla-
ted hemoglobin in diabetes.
Diabetes, 1980, 29, 296-300.

